

スイートピーの花色模様の遺伝様式と
黄色の発現機構に関する研究

筑波大学大学院
生命環境科学研究科
先端農業技術科学専攻
博士（農学）学位論文

柳下良美

目次

第1章	総合目的	…1
第2章	吹きかけ模様の遺伝様式の解明	…5
	1. 緒言	…5
	2. 材料および方法	…5
	3. 結果および考察	…7
第3章	冬咲き性品種の刷毛目形質関連遺伝子の解明	…23
	1. 緒言	…23
	2. 材料および方法	…23
	3. 結果および考察	…25
第4章	冬咲き性の吹きかけ模様および刷毛目模様品種の育成	…38
	1. 緒言	…38
	2. 材料および方法	…39
	3. 結果および考察	…40
第5章	スイートピー淡黄色色素の解析	…49
	1. 緒言	…49
	2. 材料および方法	…50
	3. 結果	…53
	4. 考察	…54

第6章 総合考察	…71
引用文献	…80
摘要	…84
Summary	…86
謝辞	…89

第1章 総合目的

スイートピー (*Lathyrus odoratus*) はマメ科レンリソウ (*Lathyrus*) 属に属するつる性の一年草である。幅広い花色があり、甘い芳香を有していることから、ガーデンでの植栽や切り花生産など園芸的に広く利用されている。自生地はイタリアの南部とシシリー島で、現在では、ヨーロッパ、アメリカ、ニュージーランド、オーストラリアおよび日本で栽培されている。ヨーロッパなどではガーデン用としての利用が多く、日本では切り花品目のひとつとして位置づけられている。切り花生産はオランダ、オーストラリアでも行われているが、日本は世界で最大の切り花生産地である (井上, 2007 ; Parsons, 2011 ; Rice, 2002)。花き品種別流通動向分析調査 (2010) では、スイートピーの取扱数量は 34,549,803 本で全品目の 1.7% を占める切り花品目の第 9 位となっている。輸入が無く、国内のみで生産される切り花としてはガーベラ、スターチス、リンドウに次ぐ重要な切り花品目である。

日本へは 1860 年に遣米使節が種子を持ち帰ったのが最初とされ (磯野, 2007)、明治時代には露地での栽培が、1910 年頃から営利的栽培が始まり、現在に至っている (井上, 1981)。1975 年の日本のスイートピー栽培面積は約 6 ha と推計され、そのうち神奈川県は 45%、兵庫県および岡山県が 25%、その他は 5% であった (井上, 1981, 1996)。エチレン高感受性の花きであるため、本来の切り花の花持ちは短く東京・大阪の近郊に位置する 3 県が主産地であった (井上, 1981)。エチレン阻害剤であるチオ硫酸銀錯塩 (STS) の効果が大きいことが示され、切り花の花持ちは飛躍的に伸びたことから (石原ら, 1991 ; Mor ら, 1984)、1986 年以降、宮崎県を始めとした新たな産地が形成され、生産が拡大した。2008 年の算出額は全体で 26.9 億円であり、内訳は、宮崎県が 54%、大分県 13% と大きく、神奈川県は全体の 5% と市場での相対的な地位は 1975 年より大きく低下した (生産農業所得統計, 2006)。

神奈川県のスィートピー栽培は 1918 年から湘南地域で栽培が始まり、1929 年に本格的な施設での切り花栽培が始まった (井上, 1981)。神奈川県内の栽培地域は寒川町、藤沢市、茅ヶ崎市、海老名市、座間市など相模川流域である。いずれも古い産地であることから高度な栽培技

術が継承されており現在でも高品質な切り花栽培が行われている。多大な栽培管理労力を必要とするため（半田，2002），1戸当たりの栽培面積が小さく労働集約的な作目である。また，低温栽培作物のため冬期の暖房設定温度が低く，低コスト栽培が可能な品目である（井上，2007）ことから現在でもバラ，カーネーションに次ぐ主要な切り花品目である。2011年の県内での生産面積は約2.4 ha（神奈川県農業技術センター普及指導部内部資料）で1975年とほぼ同じレベルを保っている。

スイートピーに関する記録は，1695年にCupaniによってシシリー島に自生していることの記述が最初である。1699年にはオランダ・アムステルダム医科大学の植物学者であるDr. Commelinに，同時期にイギリス・エンフィールドのDr. Uvedaleに種子が送られている。Commelinはこの種子を栽培し，旗弁が紫色，翼弁が空色で芳香があると報告している。Cupaniにより発見された後の約100年間は，自生種からの自然発生的な突然変異個体が栽培に用いられていたと考えられている。その間，1718年には白花が，1731年には旗弁が薄赤色で翼弁が白色の‘Painted Lady’が，1758年には旗弁がえび茶色で翼弁がスミレ色の‘Mutucana’が育成された。本格的な品種改良は1870年代にヨーロッパで，1890年頃からはアメリカのカリフォルニアで始まった。また，ニュージーランドとオーストラリアでは1990年頃から育種が始まっている（井上ら，2000；井上，2007；Rice，2002）。日本での育種は，1980年代に開始された（井上，2007）。

スイートピーは，開花習性に関しては日長に対する反応が異なる3タイプ，すなわち日長に対して中性である冬咲き（早咲き）性，15時間以上の長日を必要とする日長に強い反応を示す夏咲き（遅咲き）性，およびこれら2つの中間の反応を示す春咲き性に類別され，これらの3タイプはいずれも低温に反応して花芽分化が促進される（Ross and Murfet，1985）。野生型の開花習性は夏咲き性であり，冬咲き性は夏咲き性からの突然変異により出現した劣性形質と考えられている（Little and Kantor，1941）。Ross and Murfet（1985）はこの対立遺伝子を Dn^h ， dn と指定している。

スイートピーは上記のようにヨーロッパ，オーストラリア，ニュージーランド，アメリ

カおよび日本で栽培されており，各国ではそれぞれの気候に適した開花習性を持つ品種が育成されている(井上ら，2000)．これまでに異なる花色，開花習性，花形など多くの品種が育成されているが，*Lathyrus* 属の他種が交雑されたことは無く，*L. odoratus* の種内での変異により品種が育成され，品種間の遺伝的な距離は小さいことが示されている (Murray ら，1992 ; Nakamura ら，2010) ．

夏咲き性品種は主に，アメリカ，ヨーロッパ，オーストラリア，ニュージーランドで育種され，花色や芳香性などにバリエーションがあり，花壇などガーデン用として利用されている．一方，日本では，冬期～春期に施設での切り花栽培が行われる．低温・短日期の栽培となるため営利栽培上，開花習性はもっとも重要な形質であり，神奈川県では日長に影響を受けない冬咲き性が，宮崎県など新しい産地では日長反応が小さく種子冷蔵のみによって開花が促進できる春咲き性品種が用いられている．これらの品種群は主に変異個体の選抜や切り花に適した開花習性をもつ冬咲き・春咲き性を持つ品種・系統間での交雑・選抜により形成されている (山元，1994 ; 土居・鴻野，1996 ; 中村ら，2006a, 2006b ; 柳下・山元，2004)．日本の切り花用冬咲き・春咲き性品種はステムの長さ，太さや小花数など切り花としての形質の改良が進んでいる一方で，花色や芳香性などのバリエーションが夏咲き性品種群に比べて小さいことが品種育成上の問題になっている (井上ら，2001a)．

本博士論文執筆者は，冬咲き性品種群のバリエーションを広げるために，夏咲き性品種群にのみ存在する形質を対象とした夏咲き性品種との交雑育種に取り組んだ．本研究で対象にした形質は，花弁に斑の入る形質である．スイートピーの花弁の斑入り形質には，吹きかけ状の斑入りと刷毛目状の斑入りの2タイプがある．花弁に斑の入る形質は他の作物でも見られ，形質の遺伝様式や斑入り形質発現のメカニズムに関する研究はアサガオなどで報告されている．表現型の遺伝様式が明らかになることで，目的とする表現型を固定するための評価の方法や，目的とする表現型を有する個体を選抜するために必要な育種集団の大きさを推定することができる．これによって育種に論理性と効率性が与えられる．スイートピーは自殖性植物であることから，用いた親品種・系統においては全ての遺伝子座の型をホモで持つと

考えられる。従って、スイートピーはあらゆる表現型についての遺伝様式を解析するために適した植物であると期待される。

そこで本博士論文研究の第2章と第3章ではそれぞれの形質の遺伝様式を調査し、表現型の発現に関与する遺伝子座の数とそれらを構成する遺伝子の優劣性と独立性、遺伝子座間の作用を明らかにした。そして第4章で実際に行った冬咲き性の吹きかけ品種および刷毛目品種の育成過程をトレースし、上記で明らかにしたに必要な対立遺伝子の操作、遺伝様式を検証し、効率的で計画的な育種法について考察した。

スイートピーには白色から濃青紫まで幅広い花色が存在し、主要色素として19種類のアントシアニンの存在が報告されている (Harbone, 1960)。市場でのスイートピー取扱数量 (花き品種別流通動向分析調査, 2010) 全体の81%を占める上位20品種を花色別でみると、ピンク・サーモンピンクが34%、黄色・クリームが17%、白が11%、紫・淡紫が10%、オレンジアブリコットが2%、その他が26%となっている。淡黄色花色の‘ステラ’が全取扱量の8.2%、染色した黄色花色が5.6%を占めていることから、黄色花色の需要の大きさが窺われる。ただしスイートピーには濃黄色の花色をもつ品種は存在しない。スイートピーの淡黄色色素を明らかにすることで、色の濃さの育種目標を定めることができる。また他の花色との関係を明らかにすることで、黄色を含んだ花色の育種を論理的に設計することができる。本研究の第5章においては、さらに濃い黄色品種を効率的に育成するため、春咲き性の‘ステラ’と同様の花色をもつ、神奈川県が育成した冬咲き性の‘アルテミス’の黄色色素を分析した。第6章に総合考察として、斑入りを示す組織の着色細胞の分布を他の花で見られる斑入り模様と比較し形質が発現するメカニズムについて考察し、本論文で得られた成果から新たに期待される成果について記載した。

第2章 吹きかけ模様の遺伝様式の解明

1. 緒言

本章では、スイートピーの冬咲き性品種群のバリエーションを広げるために、夏咲き性品種からの吹きかけ状の斑入り形質、(以下、吹きかけ形質)、の導入に取り組んだ。吹きかけ形質は、花卉の周縁部の糸覆輪と背軸側のみに細かい斑を持つ形質である。スイートピーの遺伝については、Punnett が 1920-1940 年代にかけて、草型、花粉の形状、花色等の多くの形質についての遺伝様式を明らかにしている (Punnett, 1923, 1936, 1940)。ただし吹きかけ形質については、今日に至るまで遺伝様式に関する情報が得られていなかった。形質の遺伝様式は育種の効率化のための有用な情報になる。そこで本研究においては、始めに交雑実験を行い、吹きかけ形質の遺伝的性質を解析した。本章で用いた遺伝子の名称と遺伝子記号を第 2-1 表に示す。

スイートピーは淡色花の市場性が高い。交雑の片親に白色品種を用いることで、淡色花が得られることが知られている (山元, 1993)。従って吹きかけ形質については、有色花に加え白色花との間での遺伝性を理解する必要がある。本研究においては、吹きかけ品種と有色品種および白色品種との交雑を行い、交雑後代における表現型の分離比から遺伝様式に関する仮説を立てた。その上で理論値と実測値を比較することで、仮説の適合性を検討した。その際、今日、日本で使われている品種のもつ冬咲き性が夏咲き性に対して劣性であること、即ち Dn^h , dn と同じあるいは同等の機能を持つ対立遺伝子によって制御されていることを確認し、また吹きかけ形質との遺伝の独立性についても解析した。

2. 材料および方法

1) 植物材料

赤色や紫色といったアントシアニン色素による発色が花卉全体に認められるものを全着色花、アントシアニン色素による発色が花卉全体に認められないものを全白色花、旗弁

と翼弁に吹きかけ状の斑が入るものを吹きかけ花と定義した(第2-1図)。交雑親に用いた品種・系統(第2-2表)は、数代に渡り自殖を繰り返す、目的とする形質の分離がないことを確認したものをを用いた。

‘ダイアナ’は冬咲き性・全着色花品種, ‘アルテミス’, ‘イースターパレード’, ‘ダイアナホワイト’, ‘シラユキヒメ’, ‘ローブデコルテ’, ‘ホワイトクイーン’, ‘365-1’ および ‘367-1’ は冬咲き性・全白色花品種・系統および ‘Wiltshire ripple’ および ‘Lilac ripple’ は夏咲き性・吹きかけ花品種である。‘365-1’ は市販の矮性・混合花色の ‘ビュー’ から出現した高性の個体を自殖したものであり, ‘367-1’ は ‘ダイアナ’ × ‘イースターパレード’ の自殖第2代から得られた系統である。

2) 栽培方法

吸水させた種子を常法により 20℃で 3~4 日かけて催芽し, ガラス室内の栽培床へ直播し, 自然光の下で換気温度 20℃, 暖房温度 5℃の温度条件で栽培した。3~4 葉で摘心し, 側枝 1 本を伸長させて開花させた。

3) 全白色花と全白色花との交雑

2010年に全白色花品種間で交雑し, 2011年に F₁ 実生を育成し, 花卉の表現型を調査した。2012年に F₁ 世代が全着色花となった ‘ローブデコルテ’ × ‘ダイアナホワイト’ の F₂ 実生を育成し, 花卉の表現型を調査した。

4) 全白色花と刷毛目花との交雑

1999年に平塚市の旧神奈川県農業総合研究所において ‘イースターパレード’ (冬咲き性・全白色花) × ‘Lilac ripple’ (夏咲き性・吹きかけ花) の交雑を行い, 得られた F₁ 実生を 1999年10月5日からガラス温室で栽培した。これらの F₁ 個体を自殖し, 得られた F₂ 世代実生を 2000年10月3日からガラス温室で育成した。スイートピーは播種の時期によ

り低温の影響で開花時期が異なるため、開花習性を判定する指標として、開花時期が遅いほど高くなる着蕾節位（第1花芽分化節位）を用いた（Ross and Murfet, 1985）。それぞれの個体について、摘心後に伸長させた側枝で着蕾節位を調査するとともに、花卉の表現型を調査した。

5) 全着色花と刷毛目花との交雑

1996～1998年に1組の全着色花と吹きかけ花および4組の全白色花と吹きかけ花の交雑を行い、得られたF₁実生を育成した。それぞれのF₁個体を自殖し、得られたF₂世代を育成した。各個体について、花卉の表現型を調査した。

6) 顕微鏡観察

‘リップルラベンダー’の開花花卉を用いて、着色が見られる糸覆輪および細かい斑の組織の細胞をCCDカメラを装着した顕微鏡（VH-8000, Keyence Co., Osaka, Japan）を用いて観察した。

3. 結果および考察

1) 吹きかけ形質の遺伝様式の検討

‘イースターパレード’（冬咲き性・全白色花）と‘Lilac ripple’（夏咲き性・吹きかけ花）の交雑を行った。得られたF₁世代の7個体の花色はすべて全着色花となった（第2-3表）。F₁世代の自殖によって得られたF₂世代の109個体には全着色花、吹きかけ花と全白色花が出現した。この現象を理解するために、吹きかけ形質は1遺伝子（V）によって支配される劣性形質であるとともに、Punnett（1923）によって示された着色を制御する優性遺伝子（A）が劣性ホモの場合に発現が抑制される性質を持つと仮定した。この仮説においては、吹きかけ花を発現する為には着色遺伝子が優性ホモ（AA）あるいはヘテロ（Aa）、かつ吹きかけ形質遺伝子が劣性ホモ（vv）となる必要がある（第2-2図A）。着色遺伝子が劣性ホモ

(aa) の場合は、吹きかけ形質遺伝子の型に関わらず全白色花となり、それ以外の場合には全着色花となる。さらに A と V は独立して遺伝すると仮定した。

スイートピーは自殖性植物であることから、用いた親品種・系統においては全ての遺伝子座の型をホモで持つと考えられる。また既存の冬咲き性品種には吹きかけ形質は存在しないことから、優性の吹きかけ形質遺伝子 V を持つと考えられる。従って交雑に用いた吹きかけ花の遺伝子型は $AAvv$ 、全白色花の遺伝子型は $aaVV$ になる。また後述する冬咲き性の全着色花の遺伝子型は $AAVV$ になる。

この仮説に基づくと、吹きかけ花と全白色花の交雑による F_1 世代の遺伝子型はすべて $AaVv$ となり、表現型は全着色花となる (第 2-2 図 B)。実際にすべての F_1 世代の 7 個体の表現型は全着色花であった (第 2-3 表)。また F_2 世代における全着色花: 全白色花: 吹きかけ花の理論上の分離比は 9 : 4 : 3 となる。実際の F_2 世代の分離は全着色花 55 個体、全白色花 32 個体および吹きかけ花 22 個体であった。 F_1 の表現型および F_2 世代の表現型の分離には理論分離比の期待値と明らかに矛盾する結果は認められなかった ($\chi^2 = 1.597$, $P = 0.450$)。

Punnett (1923) はスイートピーの花色発現において補足遺伝子である *R-white* と *C-white* が存在し、いずれかの遺伝子が劣性ホモの場合のみに全白色花となること、それ以外の場合には着色花となることを示している。また、補足遺伝子を持つ *C-white* は第 3 章で論ずる刷毛目形質に関わる対立遺伝子の一つである g_I と同一であることを示している (Punnett, 1936)。日本の冬咲き性の全白色花品種同士の交雑で得られた F_1 個体の表現型は、組み合わせにより全てが全着色花あるいは全白色花になった (第 2-4 表)。全着色花の F_1 の自殖第 1 代 (F_2) では、全着色花が 87 個体、全白色花が 65 個体に分離した。この表現型の分離数と補足遺伝子が関与する場合の理論分離比 9 : 7 との間には矛盾は認められなかったことで ($\chi^2 = 4.500$, $P = 0.806$)、日本の冬咲き性・春咲き性品種に *R-white* と *C-white* が共に存在することが確認された (第 2-5 表)。「ダイアナホワイト」と「シラユキヒメ」の 2 品種、「イースターパレード」および「ローブデコルテ」と、「ホワイトクイーン」の 3 品種は、それぞれ同じ補足遺伝子を持つ品種群である。白色花の発現にどちらの遺伝子座が関

与している場合でも、吹きかけ花の発現には着色を担うそれぞれの遺伝子座の優性遺伝子を必要とすることから、二つの遺伝子座は遺伝的には等価で、吹きかけ形質に対して上位劣性で振る舞うと考えられる。従って、以降も吹きかけ形質の発現に関しては、着色に関与する遺伝子座を一つの A 遺伝子座として表現する。

2) 吹きかけ形質の遺伝様式の検証

他品種における上記の仮説の適合性を検証した。冬咲き性の全着色花は AAVV の遺伝子型を持つと考えられることから、夏咲き性の吹きかけ花との交雑においては、F₁ 世代はすべて AAVw の遺伝子型を持つ全着色花となり、F₂ 世代においては全着色花と吹きかけ花が 3:1 で出現すると考えられる。実際に、F₁ 世代の表現型はすべて全着色花になり、F₂ 世代においては全着色花が 20 個体、吹きかけ花が 6 個体出現したことで、理論値と実測値の適合性が示された (第 2-6 表)。優性の着色遺伝子をホモで持つ個体どうしの交配においては、吹きかけ形質は 1 つの劣性遺伝子によって制御されることが示され、全着色花と吹きかけ花の交雑においても仮説を受け入れることができる。

冬咲き性の全白色花と夏咲き性の吹きかけ花との交雑により得られた F₁ 世代の表現型は、いずれも ‘イースターパレード’ と ‘Lilac ripple’ の交雑 (第 2-3 表) と同様に、すべて全着色花となった。それぞれの F₁ 個体の自殖によって得られた F₂ 世代における表現型の分離比については、最も多い 50 個の調査個体が得られた群で理論値と実測値の最も良い適合性が得られた一方で、調査個体数が減少するに伴い理論値と実測値の乖離が大きくなる傾向が認められた (第 2-6 表)。*‘アルテミス’* と *‘Whiltshire ripple’* との F₂ 世代において認められた仮説との不適合性は、調査個体数が少ないことに起因するものと考えられる。

3) 開花習性と吹きかけ形質の遺伝的關係についての検討

‘イースターパレード’ (冬咲き性・全白色花) と ‘Lilac ripple’ (夏咲き性・吹きかけ花) の交雑によって得られた 7 個体の F₁ 世代の開花習性はすべて夏咲き性であった。F₁

個体を自殖させて得られた F₂ 世代を 2000 年 10 月に播種し、摘心後に伸長させた側枝で着蕾節位を調査した。用いた 109 個体のうち、一次側枝の着蕾節位が確認できた個体は 88 個体、一次側枝の生育が停止したため、二次側枝で開花を確認したものが 21 個体であった。一次側枝の着蕾節位に基づく個体数の分布は、低節位に少なく高節位に多い 2 グループとなった。また、これら 2 つのグループの中間に位置しグループ分けが困難な個体も存在した (第 2-3 図)。

井上ら (2001b) は開花習性の評価について、9 月上旬播種では開花習性による顕著な開花時期の違いが認められる一方で、11~3 月の冬期の播種では開花時期の差が小さくなることを報告している。本試験では、10 月上旬の播種であること、また開花習性の評価に開花時期ではなく一次側枝の着蕾節位を用いたことによって、分離が不明確な個体が出現したと思われる。そこで開花習性の判断が困難な 5 個体 (第 2-3 図*を付けた個体) を除外し、低節位グループを冬咲き性、高節位グループと二次側枝で開花を確認した個体を夏咲き性と評価した。その結果、夏咲き性は 79 個体、冬咲き性は 25 個体が得られた。分離比が 3 : 1 ($\chi^2=0.051, P=0.821$) となったことで、Little and Kantor (1941) の報告と同様に、現在日本で栽培されている冬咲き性も劣性の 1 遺伝子 (*dn*) により制御されていることを確認した (第 2-7 表)。

着色、吹きかけ形質および開花習性を制御する 3 つの遺伝子がそれぞれ独立して遺伝すると仮定すると開花習性は夏咲き性 : 冬咲き性 = 3 : 1、花卉の表現型は全着色花 : 全白色花 : 吹きかけ花 = 9 : 4 : 3 に分離することから、夏咲き性・全着色花 : 夏咲き性・全白色花 : 夏咲き性・吹きかけ花 : 冬咲き性・全着色花 : 冬咲き性・全白色花 : 冬咲き性・吹きかけ花の理論上の分離比は 27 : 12 : 9 : 9 : 4 : 3 となり、実際の出現数は理論分離比に適合した (第 2-7 表)。

以上の結果から、着色遺伝子 A と吹きかけ形質遺伝子 V および開花習性遺伝子 *Dn^h*, *dn* は、互いに独立して遺伝することが示された。

4) 花卉細胞の構成

‘リップルラベンダー’の花卉の周縁部は数層に渡り連続した有色の細胞で構成され、糸覆輪を形成していた(第2-4図)。周縁部から花卉内部の方向に向けて細胞毎の色の濃さが薄くなるように構成されていた。背軸側の糸覆輪部分以外の組織は幾つかの細胞が連続性をもって小さな着色細胞群となって白色細胞の中に分布し、細かい斑を形成していた.. 有色細胞の色の濃さは全て同程度であり、着色の有無によって細胞を明確に分類することが出来た。

5) 結論

スイートピーにおける吹きかけ形質の発現には、着色遺伝子(A)によって表現型の発現が劣性上位で抑制される劣性の1遺伝子(v)が関与していることを明らかにした。さらにこれらの遺伝子と冬咲き性を劣性とする開花習性を制御する遺伝子(Dn^h , dn)が、互いに独立して遺伝することを示した。これらのことから、吹きかけ品種を全着色品種と交配した場合には、劣性形質である吹きかけ花が発現した世代で形質の固定が完了すると考えられる。一方、吹きかけ品種を全白色品種と交配した場合には、吹きかけ花の自殖後代に劣性形質である白色花が現れなくなった世代で形質の固定が完了すると考えられる。また夏咲き性に対して劣性である冬咲き性は、表現型を発現した世代で形質の固定が完了すると考えられる。

吹きかけ模様を示す花卉組織では、着色細胞群と白色細胞群が塊で混在し、着色の有無で明確に区別することができた(第2-4図)。着色・未着色細胞の様相からアントシアニンの生合成活性の喪失と復活が、細胞間で高い頻度で変化していると考えられ、アントシアニン生合成関連遺伝子が関与している可能性がある。

第2-1表 本章で用いた遺伝子記号と遺伝子名称

遺伝子記号	遺伝子名称
Dn^h	夏咲き性遺伝子
dn	冬咲き性遺伝子
A	着色制御遺伝子
V	吹きかけ形質遺伝子

第2-2表 供試した品種・系統の開花習性，花卉着色のタイプおよび花卉色

品種/系統	開花習性 ^z	花卉着色のタイプ ^y	花卉色 ^x
ダイアナ	冬咲き性	全着色花	鮮紫ピンク
イースターパレード	冬咲き性	全白色花	黄白
シラユキヒメ	冬咲き性	全白色花	黄白
ダイアナホワイト	冬咲き性	全白色花	黄白
ホワイトクイーン	冬咲き性	全白色花	黄白
ローブデコルテ	冬咲き性	全白色花	黄白
アルテミス	冬咲き性	全白色花	淡緑黄
365-1 ^w	冬咲き性	全白色花	黄白
367-1 ^v	冬咲き性	全白色花	黄白
Wiltshire ripple	夏咲き性	吹きかけ花	暗紫赤
Lilac ripple	夏咲き性	吹きかけ花	赤紫

^z 冬咲き性；無春化・自然日長，8月下旬播種で年内開花，夏咲き性；播種翌年5月以降開花

^y 全着色花；花卉全体に発色，全白色花；アントシアニン色素の発色が認められない，吹きかけ花；旗弁と翼弁に吹きかけ状の斑と覆輪が入る

^x 吹きかけ花は斑の部分の色を示す，日本園芸植物標準色票に基づく色名

^w ‘ビュー’由来高性系統

^v ‘イースターパレード’×‘ダイアナ’の自殖第2代

第2-3表 スイートピーの全白色花品種と吹きかけ花品種間の交雑後代における全着色花, 全白色花および吹きかけ花個体の出現数

交雑組合せ	世代	個体数	出現数		理論分離比		χ^2	P	
			全着色花	全白色花	吹きかけ花	全白色花			吹きかけ花
イースターパレード × Lilac Ripple	F ₁	7	7	0	0	1	0	0	
	F ₂	109	55	32	22	9	4	3	
‘イースターパレード’の遺伝子型をaaVV, ‘Lilac ripple’の遺伝子型をAAvvと推定								1.597	0.450

第2-4表 スイートピーの全白色花×全白色花のF₁の表現型

交雑組み合わせ		全着色花	:	全白色花
イースターパレード	× ダイアナホワイト	8	:	0
ダイアナホワイト	× ローブデコルテ	64	:	0
ローブデコルテ	× ダイアナホワイト	52	:	0
ダイアナホワイト	× シラユキヒメ	0	:	14
ホワイトクイーン	× ダイアナホワイト	12	:	0
ローブデコルテ	× イースターパレード	0	:	6

第2-5表 ‘ローブデコルテ’×‘ダイアナホワイト’のF₂世代での表現型の分離

出現数		理論分離比		χ^2	<i>P</i>
全着色花	全白色花	全着色花	全白色花		
87	: 65	9	7	4.500	0.806

第2-6表 スイートピーの交雑F₁およびF₂世代における全着色花, 全白色花および吹きかけ花個体の出現数

交雑組合せ	世代	実生数	出現数		理論分離比		χ^2	P
			全着色花 : 全白色花 : 吹きかけ花	全着色花 : 全白色花 : 吹きかけ花				
全着色花×吹きかけ花								
ダイアナ × Wiltshire ripple	F ₁	8	8	0	0	1	0	
	F ₂	26	20	0	6	3	0	0.051 0.821
全白色花×吹きかけ花								
367-1 × Wiltshire ripple	F ₁	12	12	0	0	1	0	
	F ₂	22	13	2	7	9	4	4.263 0.119
365-1 × Lilac ripple	F ₁	8	8	0	0	1	0	
	F ₂	50	24	14	12	9	4	1.520 0.468
アルテミス × Wiltshire ripple	F ₁	16	16	0	0	1	0	
	F ₂	26	20	1	5	9	4	6.632 0.036
アルテミス × Lilac ripple	F ₁	14	14	0	0	1	0	
	F ₂	30	12	10	8	9	4	3.244 0.197

全着色花の遺伝子型をAAVV, 全白色花の遺伝子型をaaVV, 吹きかけ花の遺伝子型をAAvvと推定

第2-7表 ‘イースターパレード’ (冬咲き性・全白色花品種) と ‘Lilac ripple’ (夏咲き性・吹きかけ花品種) の F₂の開花習性と全着色花, 全白色花および吹きかけ花個体の出現数

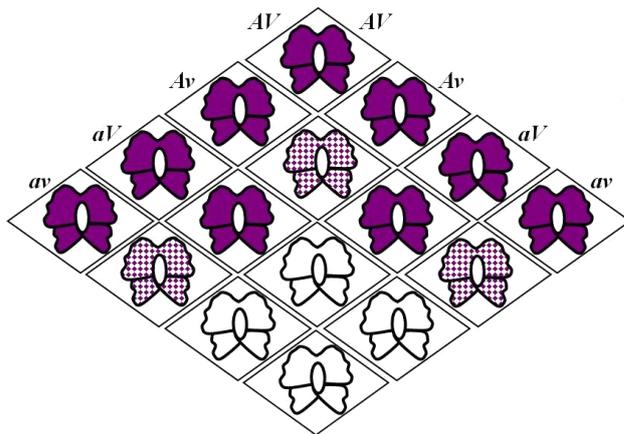
個体数	開花習性	出現数				理論分離比				χ^2	P
		計	全着色花	全白色花	吹きかけ花	全着色花	全白色花	吹きかけ花	吹きかけ花		
104	夏咲き性	79	43	19	17	27	12	9		2.279	0.809
	冬咲き性	25	11	9	5	9	4	3			



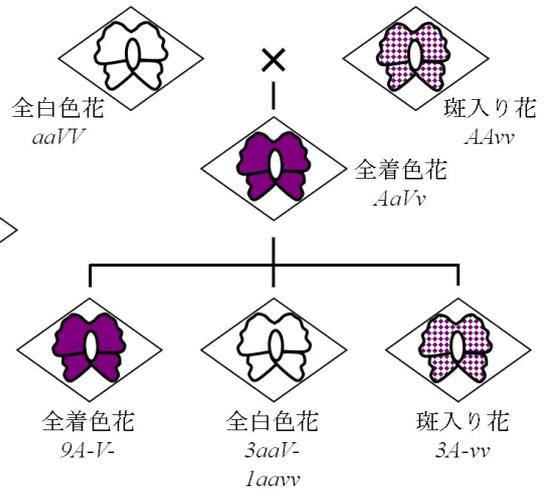
第 2-1 図 吹きかけ花の花弁 A : 背軸側, B : 向軸側

上段 : 旗弁, 下段 : 翼弁

A



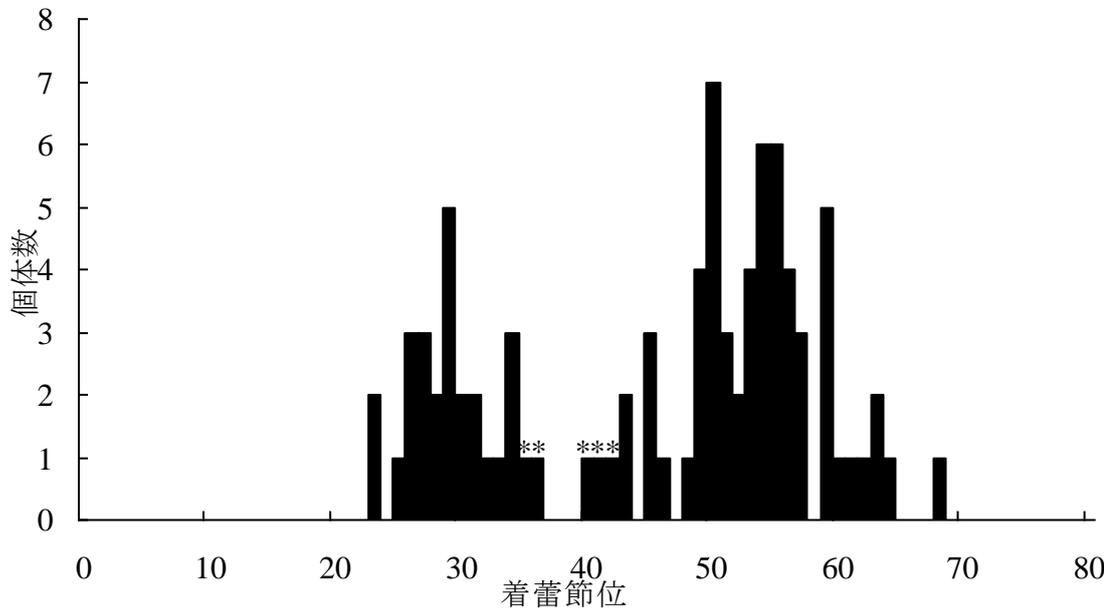
B



第 2-2 図 スイートピーの花弁吹きかけ形質に関する表現型と遺伝子型の関係

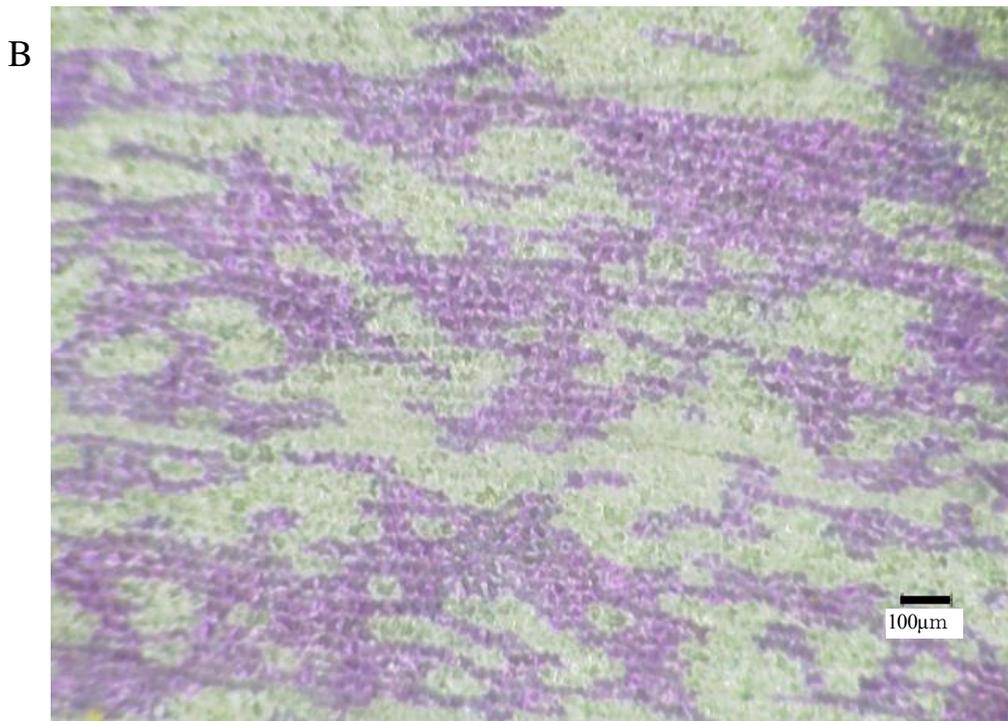
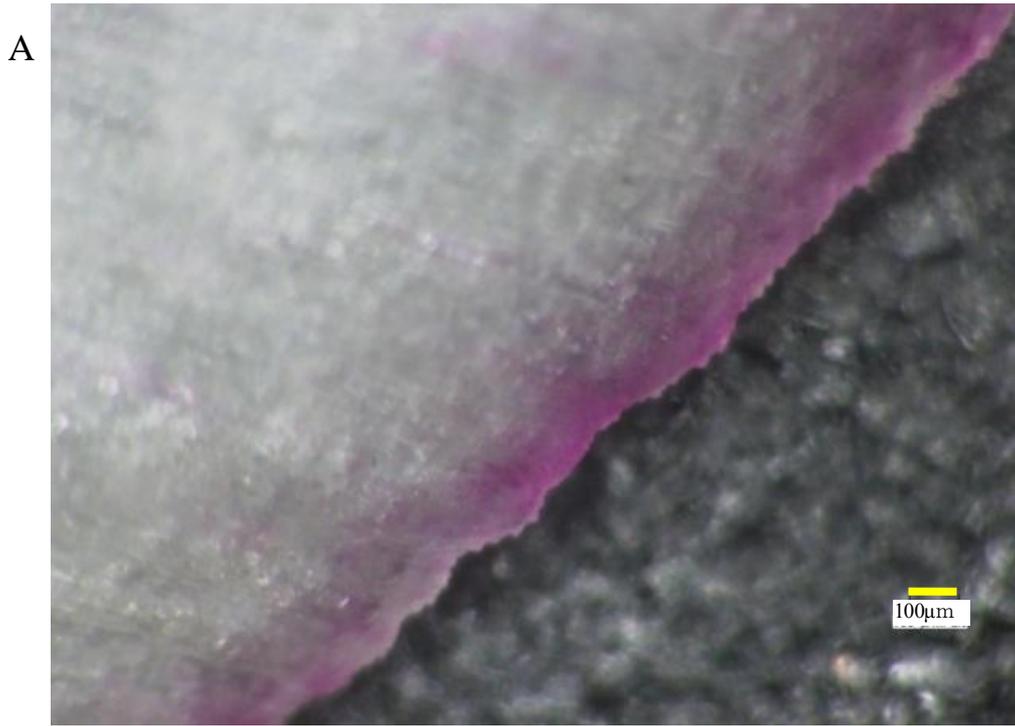
遺伝子型の A は着色制御遺伝子, V は吹きかけ形質遺伝子を表す

A : 表現型と遺伝子型の関係, B : F_1 および F_2 世代で出現する表現型と遺伝子型



第2-3図 冬咲き性全白色品種と夏咲き性吹きかけ花品種のF₂世代の一次側枝の着蕾節位別個体数の頻度分布 (2000年10月3日播種)

‘イースターパレード’ × ‘Lilac ripple’ (n=109のうち一次側枝で着蕾を確認した88個体の頻度分布), *は着蕾節位から開花習性を明確に判断することが困難で吹きかけ形質と開花習性の遺伝の独立性の検討から除外した



第 2-4 図 ‘リップルラベンダー’ 花卉の着色部位

A : 糸覆輪部, B : 背軸側のみで見られる細かい斑

第3章 冬咲き性品種の刷毛目形質関連遺伝子の解明

1. 緒言

第2章では花卉の吹きかけ形質を研究対象とした。スイートピー (*Lathyrus odoratus* L.) には、もう一つの斑入り形質である花卉の背軸側、向軸側ともにフレーク状の斑を持つ刷毛目状の斑が入る形質（以下、刷毛目形質）が存在する。本章で用いた遺伝子の名称と遺伝子記号を第3-1表に示す。

Punnett (1936) は刷毛目形質の発現には複対立遺伝子 G_1 (全着色), G_1' (刷毛目), g_1 (白色) と着色量を制御する修飾遺伝子 D_3 (密), d_3 (粗) が関与していることを示している。刷毛目形質遺伝子座にある複対立遺伝子の優劣関係は $G_1 > G_1' > g_1$ であり、遺伝子型が $G_1_$, $G_1' G_1' D_3 D_3$ および $G_1' g_1 D_3 D_3$ では全着色表現型に、 $g_1 g_1_$ では白色表現型に、 $G_1' G_1' d_3$ および $G_1' g_1 d_3$ では刷毛目表現型となる（第3-1図）。さらに、Punnett (1940) は第4の対立遺伝子として G_1'' の存在を示した。ここでは遺伝子型が $G_1' G_1''_$ および $G_1'' G_1''_$ の場合に刷毛目表現型が発現する。

一般的に冬咲き性および春咲き性品種は、全着色または白色であり、刷毛目形質を持つものはないことから、刷毛目表現型の発現に必要な対立遺伝子 G_1' , G_1'' および d_3 のいずれかまたは全部が欠如しているためであると仮定した。本章では刷毛目形質について、夏咲き性・刷毛目品種との交雑によって冬咲き性および春咲き性に欠如している対立遺伝子を明らかにした。なお開花習性と刷毛目形質との遺伝の独立性については第4章の育種の過程で解析した。

2. 材料および方法

1) 植物材料

花卉全体がアントシアニン色素により着色するものを全着色花、着色が認められないものを全白色花および花卉の両面に狭い色縞の入るものを刷毛目花と定義した（第3-2図）。刷毛目花には第3-3図に示すように着色密度によりいろいろなタイプがあるが、全て刷毛目花と定義した。交雑親に用いた品種・系統（第3-2表）は、数代に渡り自殖を繰り返し、目的とする形質の分離

がないことを確認したものをを用いた。

‘湘南オリオン’は冬咲き性・全着色花品種，‘ロイヤルクリムソン’，‘ロイヤルサーモン’および‘ロイヤルネイビーブルー’は春咲き性・全着色花品種，‘イースターパレード’および‘ダイアナホワイト’は冬咲き性・全白色花品種である。‘America’は夏咲き性・刷毛目花品種，‘03-34’，‘St-Pink’および‘St-Red’は冬咲き性・刷毛目花系統である。これらの系統は‘イースターパレード’と‘America’の交雑後代から得られた刷毛目花系統と‘ダイアナ’を交雑し，‘03-34’は自殖第2代 (bF₃)，‘St-Pink’と‘St-Red’は自殖第7代 (bF₈) から得られた系統である (第44図)。

2) 栽培方法

吸水させた種子を20℃で3～4日かけて催芽し，ガラス温室内の栽培床へ直播した。自然光の下で，換気温度20℃，加温温度5℃で9月から4月まで栽培した。3～4葉で摘心し，側枝1本を伸長させて開花させた。

3) 全着色花と刷毛目花との交雑

2004年に全着色花品種の‘湘南オリオン’と刷毛目花系統‘03-34’を交雑し，2005年にF₁実生を育成し，花卉の表現型を調査した。2009年に刷毛目花系統‘St-Pink’と全着色花品種の‘ロイヤルクリムソン’および‘ロイヤルサーモン’を，刷毛目花系統‘St-Red’と全着色花品種の‘ロイヤルネイビーブルー’を交雑した。2010年にF₁実生を，2011年にF₁を自殖させたF₂世代を育成し，花卉の表現型を調査した。

4) 全白色花と刷毛目花の交雑

刷毛目花品種の‘America’と全白色花品種の‘イースターパレード’を1997年に，‘ダイアナホワイト’を1999年に交雑した。それぞれのF₁実生を1998年および2000年に育成し，花卉の表現型を調査した。

5) 顕微鏡観察

第2章と同様の方法で、‘St-Red’系統の開花花卉を用いて、刷毛目模様の組織の細胞を顕微鏡で観察した。

3. 結果および考察

1) 刷毛目花品種‘America’と全着色花品種の遺伝子型

スイートピーは自殖性植物であることから、形質の固定した品種と系統においては全ての遺伝子座の対立遺伝子をホモで持つと推定した。冬咲き性・春咲き性品種は通常は全着色花または全白色花であり、刷毛目花は見られない。D₃遺伝子座に関わらず、G₁''はホモで存在することにより刷毛目表現型が発現されることから、日本の冬咲き性・春咲き性品種群にG₁''が存在する可能性は排除される。また、刷毛目花系統である‘03-34’、‘St-Pink’および‘St-Red’は全て‘America’の子孫であることから、これらの刷毛目形質に関わる遺伝子型は‘America’と同じであると考えられる。Punnett (1936)は‘America’の刷毛目をLight (第3-3図)に分類していると推測される。Lightの表現型を示す場合の遺伝子型はd₃がホモになる必要がある (Punnett, 1940)。従って、‘America’の遺伝子型はG₁'G₁'d₃d₃またはG₁''G₁''d₃d₃のいずれかであると考えられる。

刷毛目花系統‘St-Pink’と全着色花品種‘ロイヤルクリムソン’および‘ロイヤルサーモン’との交雑、および刷毛目花系統‘St-Red’と全着色花品種‘ロイヤルネイビーブルー’との交雑から得られた全てのF₁個体は刷毛目花表現型を示し (第3-3表)、F₁個体の遺伝子型はG₁'G₁'_d₃またはG₁'G₁''_d₃と想定できる。従って、‘ロイヤルクリムソン’、‘ロイヤルサーモン’および‘ロイヤルネイビーブルー’はG₁'G₁'をホモで持つ。‘ロイヤルクリムソン’、‘ロイヤルサーモン’および‘ロイヤルネイビーブルー’の表現型は全着色花であることから、刷毛目形質に関わる遺伝子型はG₁'G₁'D₃D₃であり、D₃遺伝子座はD₃遺伝子をホモでもつと推定される。従って、F₁個体の遺伝子型はG₁'G₁'D₃d₃またはG₁'G₁''D₃d₃のいずれかとなる。F₂世代における全着色花と刷毛目花の理論分離比は、F₁個体の遺伝子型がG₁'G₁'D₃d₃の場合は1:3、G₁'G₁''D₃d₃の場合は1:15となる。

‘St-Pink’と‘ロイヤルクリムソン’および‘ロイヤルサーモン’の交雑によって得られたF₁の自

殖後代の F_2 での分離比は、 F_1 の遺伝子型を $G_1'G_1'D_3d_3$ と仮定した場合には、 $G_1'G_1''D_3d_3$ と仮定した場合に比較して仮説との適合度が高まった (第 3-3 表). 従って F_1 の遺伝子型は $G_1'G_1'D_3d_3$ である可能性が高いと考えられた. 以上から, ‘America’, ‘03-34’, ‘St- Pink’ および ‘St- Red’ の遺伝子型は $G_1'G_1'd_3d_3$, ‘ロイヤルクリムソン’, ‘ロイヤルサーモン’ および ‘ロイヤルネイビーブルー’ の遺伝子型は $G_1'G_1'D_3D_3$ であると結論した.

日本の冬咲き性・春咲き性品種には Punnett 説において刷毛目表現型の発現に必要とされる 2 つの対立遺伝子の 1 つである G_1' が存在するにも関わらず刷毛目形質が発現しないことから, これらの品種群には d_3 遺伝子が欠如していると言える.

全着色花の ‘湘南オリオン’ と ‘America’ と同じ $G_1'G_1'd_3d_3$ の遺伝子型を持つ刷毛目花の ‘03-34’ との交雑から得られた F_1 個体は, 全て全着色花となった. 従って, F_1 個体の遺伝子型は $G_1G_1'D_3d_3$ であり, ‘湘南オリオン’ の遺伝子型は $G_1G_1D_3D_3$ と考えられる. F_2 世代では全着色花が 13 個体, 刷毛目花が 6 個体に分離した. ‘湘南オリオン’ の遺伝子型を $G_1G_1D_3D_3$ と仮定した場合の理論分離比と明らかに矛盾する結果ではなかったことから ($\chi^2 = 11.880, P = 0.152$) (第 3-3 表), ‘湘南オリオン’ の遺伝子型は $G_1G_1D_3D_3$ であると結論した.

2) 全白色花品種の遺伝子型

第 2 章で白色花の ‘ダイアナホワイト’ と ‘シラユキヒメ’ の 2 品種, ‘イースターパレード’ および ‘ローブデコルテ’ と, ‘ホワイトクイーン’ の 3 品種は, それぞれ同じ補足遺伝子を持つ品種群であることを確認した.

全白色花品種 ‘ダイアナホワイト’ と刷毛目花品種の ‘America’ の交雑から得られた F_1 個体は全て刷毛目花表現型となった (第 3-4 表). ‘ダイアナホワイト’ は刷毛目形質遺伝子座の劣性遺伝子 g_1 をホモでもつことから遺伝子型は $g_1g_1D_3D_3$, F_1 個体の遺伝子型は $G_1'g_1D_3d_3$ となる. F_2 では, 全着色花が 1 個体, 全白色花が 1 個体および刷毛目花が 4 個体出現した. F_1 個体の遺伝子型が $G_1'g_1D_3d_3$ である場合の F_2 での理論分離比は全着色花 : 全白色花 : 刷毛目花 = 3 : 4 : 9 となる. 調査個体数が少ないながら, 理論どおり, 全着色花, 全白色花, 刷毛目花の全ての表現型が出現した (第

34表) ことから, ‘ダイアナホワイト’ の遺伝子型は $g_1g_1D_3D_3$ と結論した.

全白色花品種の ‘イースターパレード’ と刷毛目花品種の ‘America’ との交雑から得られた F_1 個体は全て全着色花表現型となった (第 34 表). F_1 個体は, 刷毛目形質遺伝子座の優性遺伝子 G_1 をもち, ‘イースターパレード’ は G_1 遺伝子をホモでもつと推定される. 従って, ‘イースターパレード’ の遺伝子型は $g_1/C\text{-white}$ の補足遺伝子である $R\text{-white}$ を劣性ホモで持つ $G_1G_1D_3D_3$, F_1 個体の遺伝子型は $R\text{-white}$ をヘテロで持つ $G_1G_1'D_3d_3$ と推測できる. F_2 では全着色花が 20 個体, 全白色花が 9 個体, 刷毛目花が 1 個体に分離した. 刷毛目形質に対して, $R\text{-white}$ は吹きかけ形質に対するものと同様に上位性をもって劣性に刷毛目形質の発現を制御すると仮定すると, F_1 個体の遺伝子型が $R\text{-white}$ をヘテロで持つ $G_1G_1'D_3d_3$ である場合の F_2 世代の理論分離比は全着色花 : 刷毛目花 : 白色花 = 39 : 9 : 16 になる. 実際の出現数と理論分離比の間に矛盾は認められなかったことで, この仮説を受け入れることができることが示された (第 34 表). このことから ‘イースターパレード’ の遺伝子型は $R\text{-white}$ を劣性ホモで持つ $G_1G_1D_3D_3$ と結論した. 刷毛目形質に対しては, $R\text{-white}$ は吹きかけ形質に対するものと同様に劣性上位で発現を抑制する一方で, $C\text{-white}$ は通常の劣性遺伝子として制御することが示された.

3) 花卉細胞の構成

花卉の周縁部および内部の組織は, とともに有色細胞と白色細胞が混在して構成されていた. 吹きかけ花の花弁と同様に有色細胞の色の濃さは全て同程度であり, 着色の有無によって細胞を明確に分類することが出来た. 細かい斑となっている吹きかけ花の花弁よりも大きな着色細胞群が白色細胞の中に分布し, 刷毛目状の斑を構成していた (第 34 図).

4) 結論

刷毛目花と全着色花との交雑による F_1 および F_2 の表現型から, 日本の冬咲き性および春咲き性品種群には G_1, G_1' および D_3 が存在していることが示された. さらに, 刷毛目花と全白色花の交雑による F_1 および F_2 の表現型から, これらの品種群には $g_1/C\text{-white}$ および $R\text{-white}$ が存在しているこ

とも明らかとなった. このことから冬咲き性・春咲き性品種群に欠如している遺伝子は d_3 と G_1'' であると考えられる. 従って, 全着色花品種の遺伝子型は $G_1G_1D_3D_3$ または $G_1'G_1'D_3D_3$ であり, 全白色花品種の遺伝子型は $g_1g_1D_3D_3$ または, *R-white* を劣性ホモでもつ $G_1G_1D_3D_3$ と考えられる. 全白色花品種には *R-white* を劣性ホモでもつ $G_1'G_1'D_3D_3$ が存在する可能性があるが, 本研究では確認できなかった. 代表的な夏咲き性刷毛目花品種である ‘America’ は, $G_1'G_1'd_3d_3$ の遺伝子型をもつと考えられる. G_1'' を持つ品種はこれまでに特定できていない. 従って ‘America’ および関連系統との交雑による刷毛目形質の導入の本質は d_3 遺伝子の導入であると理解される.

着色量を制御する D_3 遺伝子座は D_3D_3 では刷毛目形質を発現せず, d_3d_3 のホモ, または D_3d_3 のヘテロで刷毛目形質を発現することから, 自殖後代において全着色形質が現れなくなった世代で d_3d_3 の遺伝子型の固定, 即ち D_3 の排除が完了する. G_1' は G_1 に対して劣性遺伝子であることから, 刷毛目形質が発現した当代で固定が完了する. ただし g_1 を持つ白色品種と交雑した場合には, G_1' は g_1 に対して優性遺伝子として振る舞うことから, 自殖後代において全白色形質が現れなくなった世代で $G_1'G_1'$ の固定が完了する. 同様に *R-white* 遺伝子を持つ白色品種と交配した場合にも, *R-white* の対立遺伝子である着色を担う優性遺伝子の固定は, 自殖後代において全白色形質が現れなくなった世代で完了する. 以上のことから, 刷毛目花と全着色あるいは全白色花を交雑したいずれの場合においても, 刷毛目形質を発現し, かつ後代に刷毛目形質のみが出現するようになった世代で *R-white* の優性遺伝子をホモとする $G_1'G_1'd_3d_3$ の遺伝子型の固定, 即ち刷毛目形質の固定が完了するという理解が導かれる.

刷毛目模様を示す花卉も吹きかけ形質と同様に着色細胞群と白色細胞群が塊で存在し, これらが混在することで形成されている (第 34 図). 本研究で対象とした 2 つのタイプの斑入り形質をもつ花卉では, 着色細胞群の大きさに違いは見られるものの, 花卉の表皮組織では同じように着色細胞群と白色細胞群が混在する状態が観察された. 刷毛目形質と吹きかけ形質は斑が発現する花卉の部位が異なる. 2 つのタイプの斑入り形質は異なる遺伝様式によって制御されていることから, これらの模様の形成には, 異なるアントシアニン生合成関連遺伝子, または異なる制御機構が関与して

いる可能性が考えられる。

第3-1表 本章で用いた遺伝子記号と遺伝子名称

遺伝子記号	遺伝子名称
Dn^h	夏咲き性遺伝子
dn	冬咲き性遺伝子
G_1	刷毛目形質遺伝子
D_3	着色量制御遺伝子
R	着色制御遺伝子
C	着色制御遺伝子

第3-2表 供試した品種・系統の開花習性，花卉着色のタイプおよび花卉色

品種/系統	開花習性 ^z	花卉着色のタイプ ^y	花卉色 ^x
湘南オリオン	冬咲き性	全着色花	青味紫
ロイヤルクリムソン	春咲き性	全着色花	濃赤
ロイヤルネイビーブルー	春咲き性	全着色花	濃青紫
ロイヤルサーモン	春咲き性	全着色花	鮮ピンク
イースターパレード	冬咲き性	全白色花	黄白
ダイアナホワイト	冬咲き性	全白色花	黄白
America	夏咲き性	刷毛目花	明紅
03-34 ^w	冬咲き性	刷毛目花	鮮紫ピンク
St-Pink ^v	冬咲き性	刷毛目花	鮮紫ピンク
St-Red ^v	冬咲き性	刷毛目花	明紅

^z 冬咲き性；無春化・自然日長，8月下旬播種で年内開花，春咲き性；播種翌年2～4月に開花，夏咲き性；播種翌年5月以降開花

^y 全着色花；花卉全体に発色，全白色花；アントシアニン色素の発色が認められない，

^x 刷毛目花は斑の部分の色を示す，日本園芸植物標準色票に基づく色名

^w ‘イースターパレード’ × ‘America’ の自殖第2代

^v ‘イースターパレード’ × ‘America’ の自殖第7代

第3-3表 全着色花と刷毛目花の交雑によるF₁及びF₂世代での表現型

交配組合せ	世代	出現数		理論分離比		χ^2	P
		全着色花	刷毛目花	全着色花	刷毛目花		
湘南オリオン (全着色花) × 03-34 (刷毛目花)	F ₁	4	0	1	0		
	F ₂	13	6	13	3 ^z	11.880 ^z	0.1519 ^z
St-Pink (刷毛目花) × ロイヤル クリムゾン (全着色花)	F ₁	0	8	0	1		
	F ₂	5	10	1	3 ^z	3.125 ^z	0.465 ^z
St-Pink (刷毛目花) × ロイヤル サーモン (全着色花)	F ₁	0	5	0	1		
	F ₂	7	9	1	3 ^z	18.000 ^z	0.0833 ^z
St-Red (刷毛目花) × ロイヤル ネイビーブルー (全着色花)	F ₁	0	8	0	1		
	F ₂	1	12	1	3 ^z	10.125 ^z	0.1495 ^z
				1	15 ^y	0.070 ^y	0.8299 ^y

^z刷毛目花の遺伝子型をG₁G₁d₃d₃と仮定, ^y刷毛目花の遺伝子型をG₁^yG₁^yd₃d₃と仮定

第3-4表 全白色品種と‘America’の交雑によるF₁及びF₂での表現型

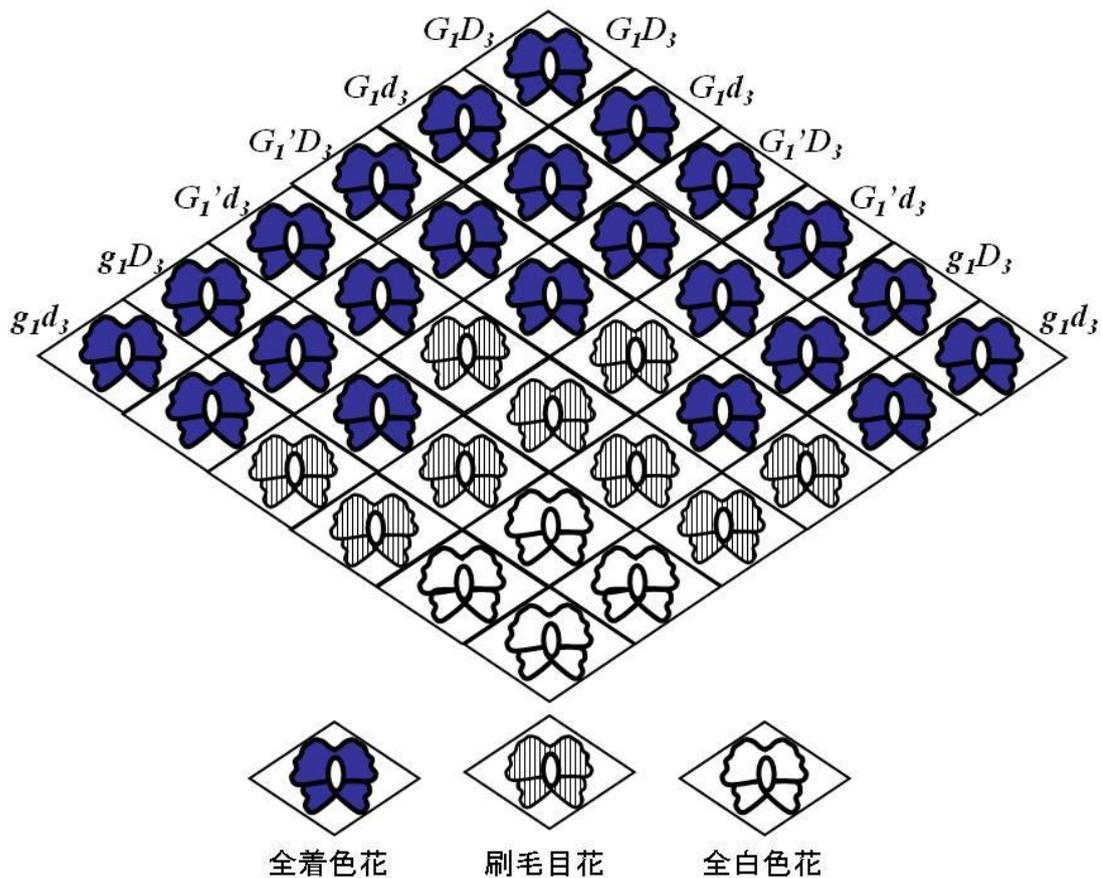
交雑組合せ	世代	出現数			理論分離比			χ ²	P
		全着色花	全白色花	刷毛目花	全着色花	全白色花	刷毛目花		
ダイアナホワイト × America	F ₁	0	0	4	0	0	1	0.656 ^z	0.8623 ^z
	F ₂	1	1	4	3	4	9 ^z		
イースターパレード × America	F ₁	10	0	0	1	0	0	15.564 ^w	0.2325 ^w
	F ₂	20	9	1	39	16	9 ^x		

^z ‘ダイアナホワイト’の遺伝子型をg₁g₁D₃D₃, 刷毛目花の遺伝子型をG₁G₁d₃d₃と仮定,

^y ‘ダイアナホワイト’の遺伝子型をI₁I₁D₃D₃, 刷毛目花の遺伝子型をG₁G₁d₃d₃と仮定

^x ‘イースターパレード’の遺伝子型をG₁G₁D₃D₃・R・whiteをホモ, 刷毛目花の遺伝子型をG₁G₁d₃d₃・Rをホモと仮定

^w ‘イースターパレード’の遺伝子型をG₁G₁D₃D₃・R・whiteをホモ, 刷毛目花の遺伝子型をG₁G₁d₃d₃・Rをホモと仮定



第3-1図 Punnett (1936) が提唱した仮説に基づくスイートピーの花卉刷毛目形質に関する表現型と遺伝子型の関係

遺伝子型の G_1 , G_1' および g_1 は刷毛目形質遺伝子, D_3 および d_3 は着色量制御遺伝子を表す



第3-2図 刷毛目花の花弁 A：向軸側，B：胚軸側

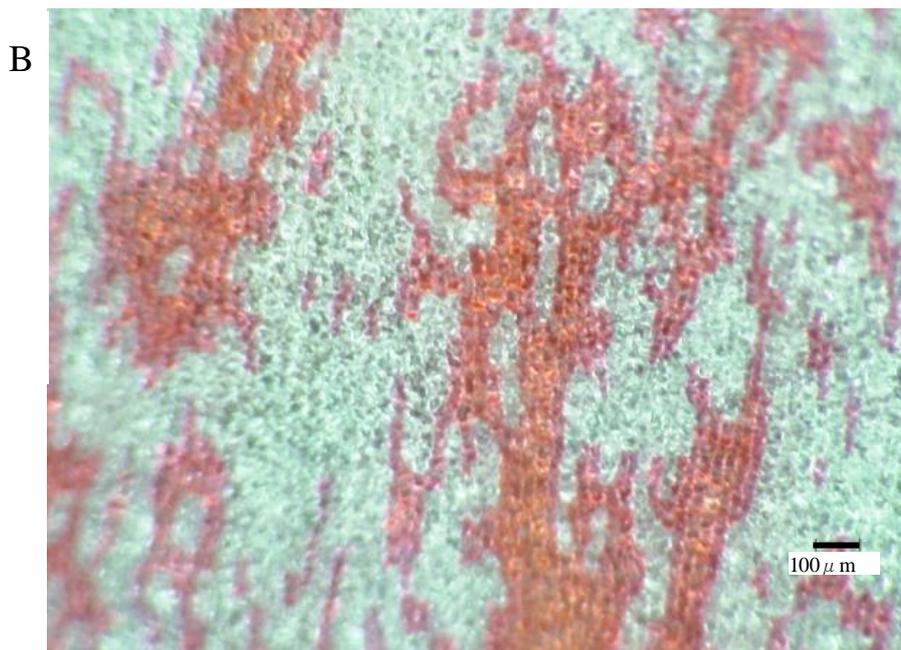
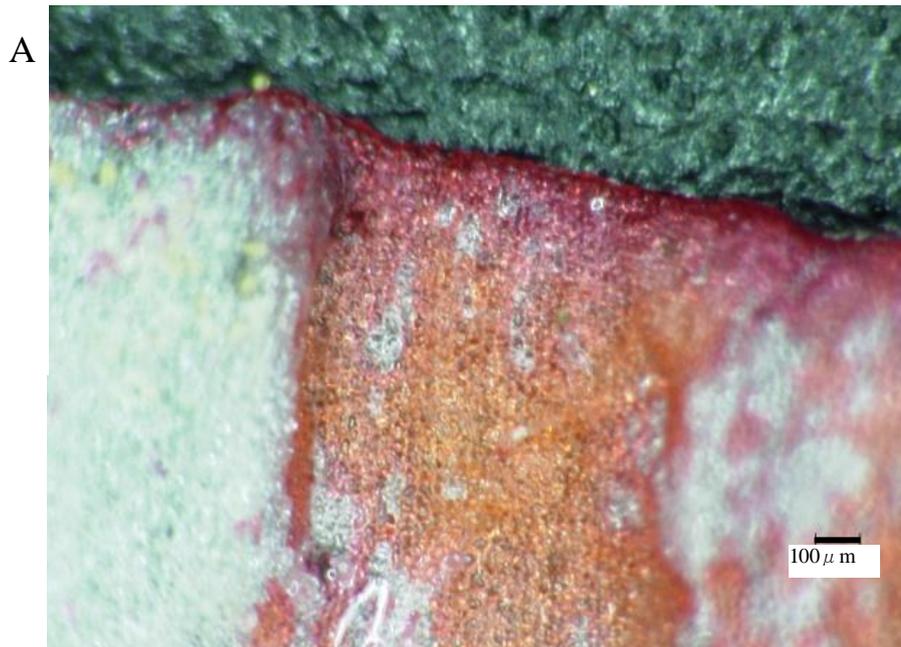
上段：旗弁，下段：翼弁



第 3-3 図 着色量の違いによる刷毛目模様タイプ

A : Dark, B : Medium, C : Light,

分類は Punnett (1936) の定義を参考にした



第 3-4 図 ‘St-Red’ 系統花卉の着色部位

A : 花卉周縁部,

B : 向軸側・背軸側の両面に見られる刷毛目状の斑

第4章 冬咲き性の吹きかけ模様および刷毛目模様品種の育成

1. 緒言

第2章では、吹きかけ形質の発現には、吹きかけ模様の形成を制御する遺伝子座にある1つの劣性遺伝子 (v) と、着色を制御する遺伝子座にある1つの優性遺伝子 (A) の2つを必要とすること、これら2つの遺伝子座と開花習性を制御する遺伝子座 (Dn^h , dn) は互いに独立して遺伝することを明らかにした。これらのことから夏咲き性・吹きかけ花品種との交雑による吹きかけ形質をもつ冬咲き性品種の育成には、以下の4つの過程による遺伝子型の固定が必要となる：1) v 遺伝子の導入、2) V 遺伝子の排除、3) a 遺伝子の排除、4) dn 遺伝子の固定。着色形質は優性遺伝子 A に支配されるため、自殖後代で劣性形質である白色花が現れないことにより A 遺伝子の固定が確認できる。また、冬咲き性は開花習性遺伝子座の劣性遺伝子 dn に支配されることから、冬咲き性が発現した当代で固定が完了すると理解される。

また第3章では、刷毛目形質が発現しない冬咲き性品種群には、Punnett による刷毛目形質の発現に関与する2つの遺伝子座のうち、 G_1' 遺伝子は存在するが、 G_1' 遺伝子と共存して刷毛目形質を発現するのに必要な d_3 遺伝子が欠如していること、あるいは単独で刷毛目形質を発現するとされる複対立遺伝子の一つである G_1'' 遺伝子が欠如していることを明らかにした。これらのことから夏咲き性・刷毛目花品種との交雑による冬咲き性刷毛目花品種の育成には、以下の4つの過程による $G_1'G_1'd_3d_3$ 遺伝子型の固定が必要となる：1) 交雑による刷毛目花品種からの d_3 遺伝子の導入、2) 刷毛目花表現型の選択による G_1 遺伝子の排除、3) 自殖後代が全て刷毛目花になることの確認による D_3 遺伝子の排除、4) 自殖後代が全て着色花になることの確認による白色遺伝子 $g_1/C\text{-white}$ と $R\text{-white}$ の排除。加えて、冬咲き性は夏咲き性に対して劣性であることから、5) 冬咲き性の選択による夏咲き性遺伝子の排除が必要となる。それぞれの遺伝子座における遺伝子の優劣性から、刷毛目形質が発現した後代において全着色形質あるいは全白色形質が現れなくなった世代で $G_1'G_1'd_3d_3$ の遺伝子型の固定、即ち刷毛目形質の固定が完了すると理解される。

本章では、これまでに得られた知見に基づいて、実際に行った冬咲き性の吹きかけ品種および刷毛目品種の育成過程をトレースした。各世代における形質の遺伝様式を明らかにしつつ、対立遺伝子を固定するための操作が行われた世代を特定し、効率的で計画的な育種法について検証した。

2. 材料および方法

1) 植物材料

花の模様と色については第2章および3章と同様に定義した。交雑に用いた品種・系統の開花習性、花卉の表現型および花色と系統の由来は第4-1表に示した。‘ダイアナ’、‘365-1’、‘367-1’、‘Wiltshire ripple’ および ‘Lilac ripple’ については第2章で、‘America’ および ‘イースターパレード’ および ‘湘南オリオン’ については第3章で細かく説明した。

交雑親には数代に渡り自殖を繰り返す、目的とする形質の分離が無いことを確認したものをを用いた。開花習性の判定は、種子冷蔵処理は行わず8月下旬に播種し、播種年内に着蕾が確認された個体を冬咲き性、播種翌年の4月以降に着蕾が確認された個体を夏咲き性とした。

2) 冬咲き性吹きかけ品種の育成

1996年3月に育成系統‘367-1’と‘Wiltshire ripple’との交雑(交雑z)を行った。交雑後代から選抜と自殖を繰り返して形質の固定を図り、自殖第6代(zF₇)で‘リップルラベンダー’(柳下・山元, 2005, 2007)を、自殖第7代(zF₈)で‘リップルショコラ’(柳下・山元, 2006b, 2007)を育成した。

同年に育成系統‘356-1’と‘Lilac ripple’の交雑(交雑y)を行った。交雑後代から選抜と自殖を繰り返して形質の固定を図り、自殖第7代(yF₈)で‘リップルピーチ’(柳下・山元, 2006a, 2007)を育成した。

3) 冬咲き性刷毛目品種の育成

1998年3月に夏咲き性・刷毛目花品種‘America’と冬咲き性・全白色花品種‘イースターパレード’の交雑(交雑a)を行った。交雑後代から選抜と自殖を繰り返す、切り花形質を改良するため自殖第2代(aF_3)の個体と‘ダイアナ’を交雑(交雑b)した。交雑後代から選抜と自殖を繰り返す、さらに刷毛目模様色を改良するため自殖第2代(bF_3)の個体と‘湘南オリオン’との交雑(交雑c)を行った。交雑後代から選抜と自殖を繰り返して、形質の固定を図り、自殖第7代(cF_7)、即ち‘America’と‘イースターパレード’を用いて行った最初の交雑から14世代目で‘スプラッシュブルー’と‘スプラッシュパープル’の2品種を育成した。

3. 結果および考察

1) 冬咲き性・吹きかけ花品種の育成

冬咲き性・全白色花である‘367-1’は吹きかけ形質発現に関する遺伝子型を $aaVv$ で持つとともに冬咲き性遺伝子 dn を劣性ホモで持つと考えられる。夏咲き性・吹きかけ花品種‘Wiltshire ripple’は吹きかけ発現に関する遺伝子型を $AAvv$ で持つとともに夏咲き性遺伝子 Dn^h を優性ホモでもつと考えられる。この交雑により Dn^h , A および v が導入され、交雑 z 第1代(zF_1)は遺伝子型を $Dn^h dn Aa Vv$ とする夏咲き性・全着色花の表現型を示した。 zF_1 の自殖第1代(zF_2)では冬咲き性・吹きかけ花、夏咲き性・吹きかけ花、冬咲き性・全着色花および夏咲き性・全着色花が分離した。

zF_2 で選抜した冬咲き性・吹きかけ花個体を自殖させて得られた自殖第2世代(zF_3)は全て冬咲き性・吹きかけ花となったことから、 zF_2 世代で Dn^h , V および白色遺伝子 a が排除され、開花習性、着色、吹きかけ形質の3つの遺伝子座で遺伝子型が $dndnAAvv$ に固定されたと考えられる。この選抜個体の自殖を繰り返す、他の形質の固定を図りながら増殖を行い zF_7 で‘リップルラベンダー’を育成した。

zF_2 世代で選抜した冬咲き性・全着色花個体の zF_2 の自殖第2代(zF_3)は全て冬咲き性の吹きかけ花、あるいは全着色花となったことから、 zF_2 世代で Dn^h および a が排除され、 dn および A が固定されたと考えられる。また zF_3 世代で得られた吹きかけ花において、優性遺伝子 V が排除され、遺伝子型は $dndnAAvv$ となり3つの遺伝子座で遺伝子が固定されたと考えられる。この選抜個体の

自殖を繰り返し zF_8 で ‘リップルショコラ’ を育成した (第41 図および第43 図).

交雑 y でも同様に, 交雑親とした夏咲き性・吹きかけ花品種 ‘Lilac ripple’ の遺伝子型は $Dn^h Dn^h AA_{vv}$, 冬咲き性・全白色花 ‘365-1’ の遺伝子型は $dndnaaVV$ と考えられる. この交雑により Dn^h , A および v が導入され, 交雑 z 第1代 (yF_1) は遺伝子型を $Dn^h dnAaVv$ とする夏咲き性・全着色花の表現型を示した. yF_1 の自殖第1代 (yF_2) は全て夏咲き性で花卉の表現型は吹きかけ花, 全着色花および全白色花が分離した. yF_2 で選抜した夏咲き性・吹きかけ花個体を自殖させて得られた自殖第2世代 (yF_3) は全て吹きかけ花となったことから, yF_2 世代で V および白色遺伝子 a が排除され, 着色と吹きかけ形質の2つの遺伝子座で遺伝子型が AA_{vv} に固定されたと考えられる. yF_3 世代で夏咲き性と冬咲き性が分離したことから, yF_2 の開花習性の遺伝子型は $Dn^h dn$ のヘテロであると考えられる. yF_3 世代で冬咲き性を選抜することにより Dn^h が排除され, yF_3 の遺伝子型は $dndnAA_{vv}$ となり3つの遺伝子座で遺伝子が固定されたと考えられる. この選抜個体の自殖を繰り返し yF_8 で ‘リップルピーチ’ を育成した (第42 図および第43 図).

2) 冬咲き性・刷毛目花品種の育成

冬咲き性全白色品種である ‘イースターパレード’ は刷毛目形質に関する遺伝子型を $G_1 G_1 D_3 D_3$ で持つとともに, 劣性の白色遺伝子 r (R -white) と冬咲き性遺伝子 dn をホモで持つと考えられ, 遺伝子型は $dndnrrG_1 G_1 D_3 D_3$ となる. 夏咲き性刷毛目花品種である ‘America’ は刷毛目形質に関する遺伝子型を $G_1' G_1' d_3 d_3$ で持つとともに, R -white に対して優性の着色遺伝子 R と夏咲き性遺伝子をホモで持つと考えられ, 遺伝子型は $Dn^h Dn^h RR G_1' G_1' d_3 d_3$ となる. この交雑により G_1' , d_3 , R および Dn^h が導入されたことによって, 交雑第1代 (aF_1) は遺伝子型を $Dn^h dnRrG_1 G_1' D_3 d_3$ とする夏咲き性・全着色花の表現型を示した. aF_1 の自殖第1代 aF_2 世代では刷毛目花, 全着色花および全白色花が分離した. aF_2 世代で選抜した1個体を自殖させて得られた自殖第2世代 (aF_3) は全て有色花となったことから, aF_2 世代において r 遺伝子が排除されたと考えられる. また, aF_3 世代で, 自殖第3世代 (F_4) が全て刷毛目花表現型を示す冬咲き性・刷毛目花個体 (第44 図 ①) が得られた. 従って, aF_3 世代において G_1 , D_3 および Dn^h は排除され, 刷毛目形質の遺伝子型は

$G_1' G_1' d_3 d_3$ に固定され aF_3 世代で遺伝子型は $dndnRRG_1' G_1' d_3 d_3$ に固定されたと考えられる。 aF_3 において冬咲き性と着色性の表現型が固定されたことから、以下の交雑では、 G_1 と D_3 アレルのみの遺伝性を論じる。 aF_3 の刷毛目花個体 (第44図 ①) と全着色花の ‘ダイアナ’ ($G_1' G_1' d_3 d_3$) を交雑して得られた交雑第1代 (bF_1) は全て刷毛目花表現型となったことから bF_1 の遺伝子型は $G_1' G_1' D_3 d_3$ と考えられる。 自殖第2世代 (bF_2)、第3世代 (bF_3) および第4世代 (bF_4) の51個体は全て刷毛目花表現型となったが、自殖第5世代 (bF_5) の19個体のうち1個体のみ全着色個体が出現した。

bF_5 で出現した全着色の1個体は、人為的ミスによる混入または突然変異 (Imai and Inuma, 1938) であると判断した。 よって、 bF_2 世代で D_3 遺伝子が排除され、 遺伝子型が $G_1' G_1' d_3 d_3$ の刷毛目形質が固定されたと考えられる。 bF_3 世代で得られた刷毛目花個体 (第44図 ②) と全着色花の ‘湘南オリオン’ ($G_1 G_1 D_3 D_3$) を交雑して得られた交雑第1代 (cF_1) は全て全着色花の $G_1 G_1' D_3 d_3$ となった。 この自殖第1代 (cF_2) で選抜した刷毛目花個体の自殖第2代 (cF_3) では刷毛目花と全着色花が8:2で分離した。 従って cF_2 の刷毛目花個体の遺伝子型は G_1 遺伝子が排除された $G_1' G_1' D_3 d_3$ と考えられる。 cF_3 で選抜した刷毛目花個体の後代には刷毛目花のみが出現したことから、 D_3 遺伝子は cF_3 で排除され、 遺伝子型は $G_1' G_1' d_3 d_3$ となり、 刷毛目花形質が固定したと考えられる。 刷毛目花形質が固定した cF_4 以降は自殖を繰り返して花色の固定を進め、 cF_8 で冬咲き性刷毛目花の2品種 ‘スプラッシュブルー’、 ‘スプラッシュパープル’ を育成した (第44図および第45図)。

冬咲き性刷毛目花の2品種の育成では、 aF_2 で R -white が、 aF_3 で G_1, D_3 および Dn^h が排除され、 遺伝子型は $dndnAAG_1' G_1' d_3 d_3$ に固定されたと考えられる。 bF_2 で D_3 遺伝子、 cF_2 で G_1 遺伝子および cF_3 で D_3 遺伝子が排除され、 遺伝子型が固定した。 冬咲き性吹きかけ品種の育成過程と同様にそれぞれの表現型は様々な世代で個別に固定できたことから、 刷毛目形質発現に関わる G_1 および D_3 遺伝子座と開花習性および着色制御の遺伝子座は、 いずれも独立して遺伝していると推測される。

第4-1表 交雑親に用いた品種・系統の開花習性，花卉着色のタイプおよび花卉色

品種/系統	開花習性 ^z	花卉着色のタイプ ^y	花卉色 ^x
365-1 ^w	冬咲き性	全白色花	黄白
367-1 ^v	冬咲き性	全白色花	黄白
イースターパレード	冬咲き性	全白色花	黄白
ダイアナ	冬咲き性	全着色花	鮮紫ピンク
湘南オリオン	冬咲き性	全着色花	青味紫
America	夏咲き性	刷毛目花	明紅
Wiltshire ripple	夏咲き性	吹きかけ花	暗紫赤
Lilac ripple	夏咲き性	吹きかけ花	赤紫

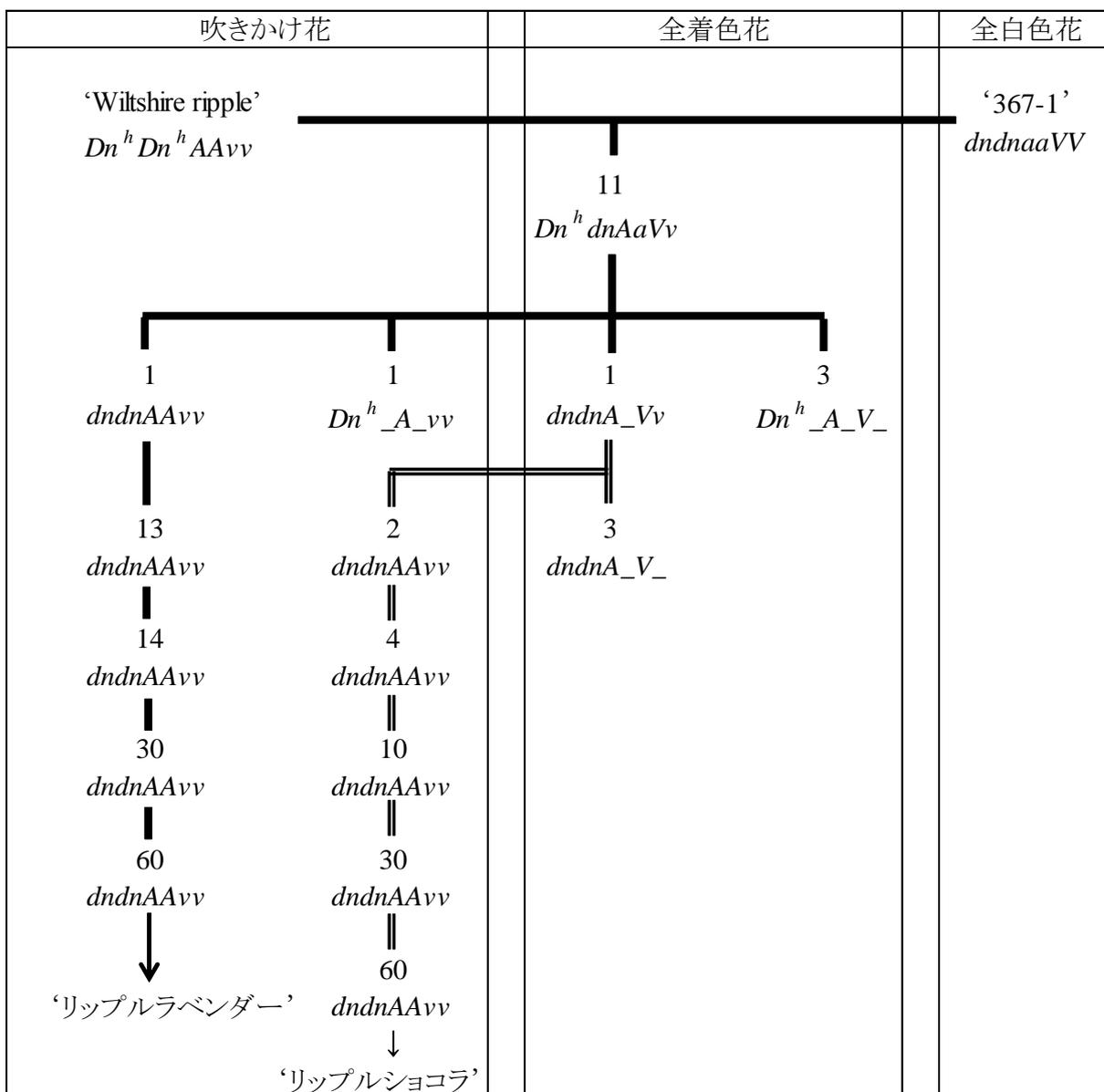
^z 冬咲き性；無春化・自然日長，8月下旬播種で年内開花，夏咲き性；播種翌年5月以降開花

^y 全着色花；花卉全体に発色，全白色花；アントシアニン色素の発色が認められない，吹きかけ花；旗弁と翼弁に糸覆輪と背軸側のみに細かい斑が入る，刷毛目花：旗弁と翼弁の両面に刷毛目状の斑が入る

^x 斑入り花は斑の部分の色を示す，日本園芸植物標準色票に基づく色名

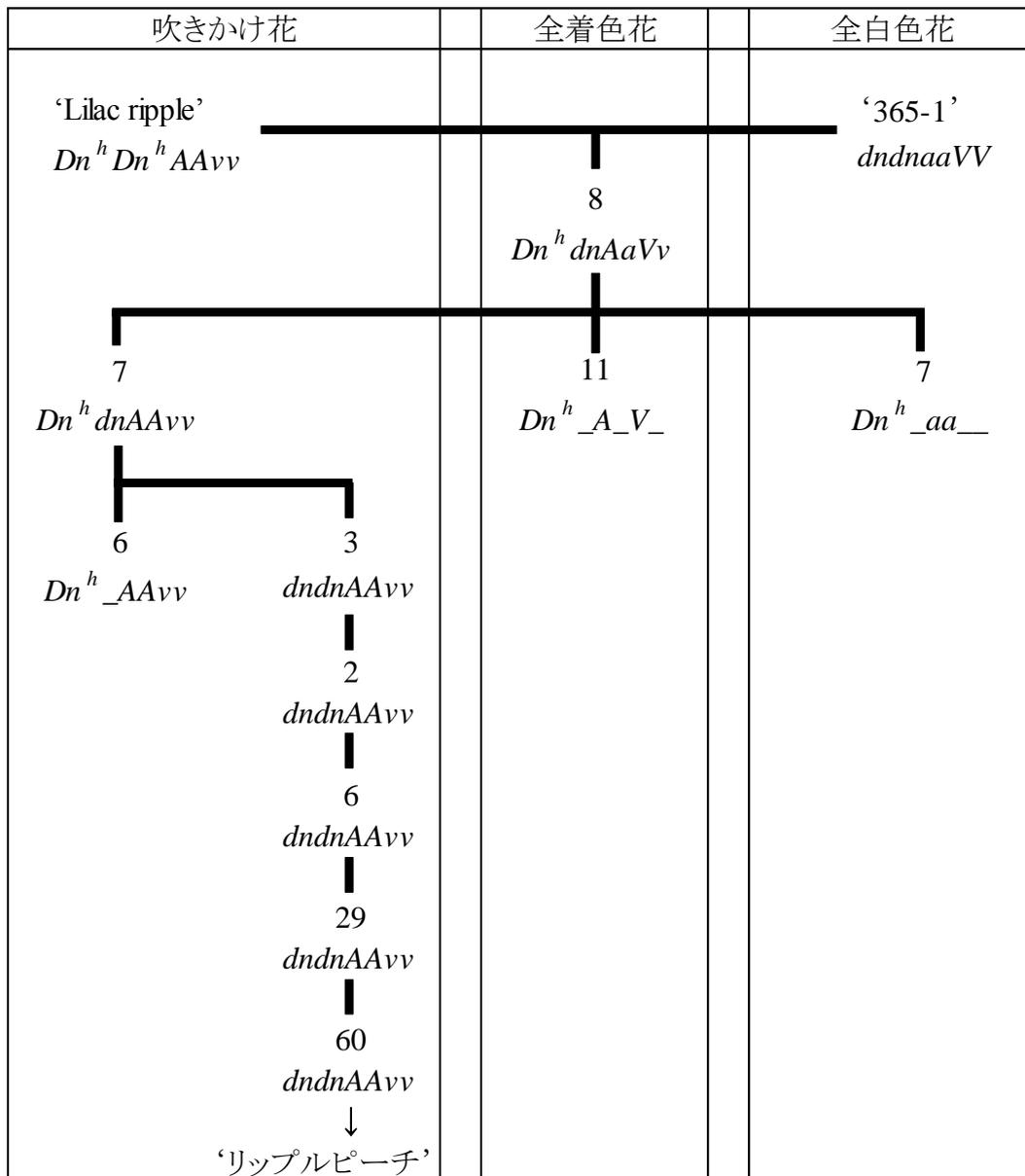
^w ビュー由来高性系統

^v ‘イースターパレード’ × ‘ダイアナ’ の自殖第2代

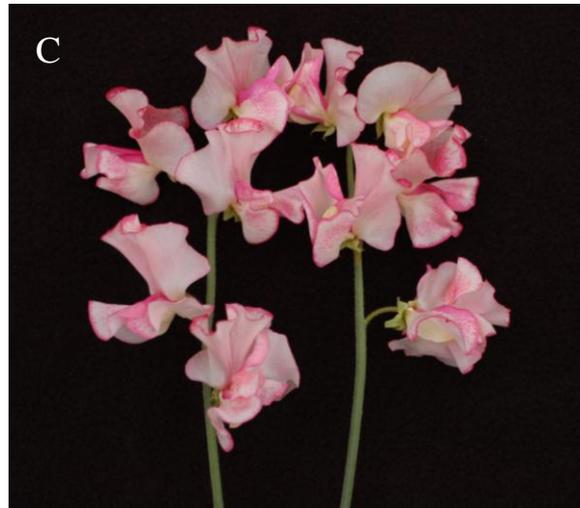


第4-1図 本研究で用いた冬咲き性吹きかけ花品種‘リップルラベンダー’，‘リップルシヨコラ’の育成系譜

夏咲き性遺伝子は Dn^h ，冬咲き性遺伝子は dn ，着色遺伝子は A ，白色遺伝子は a ，全着色遺伝子は V ，吹きかけ遺伝子は v で表した。

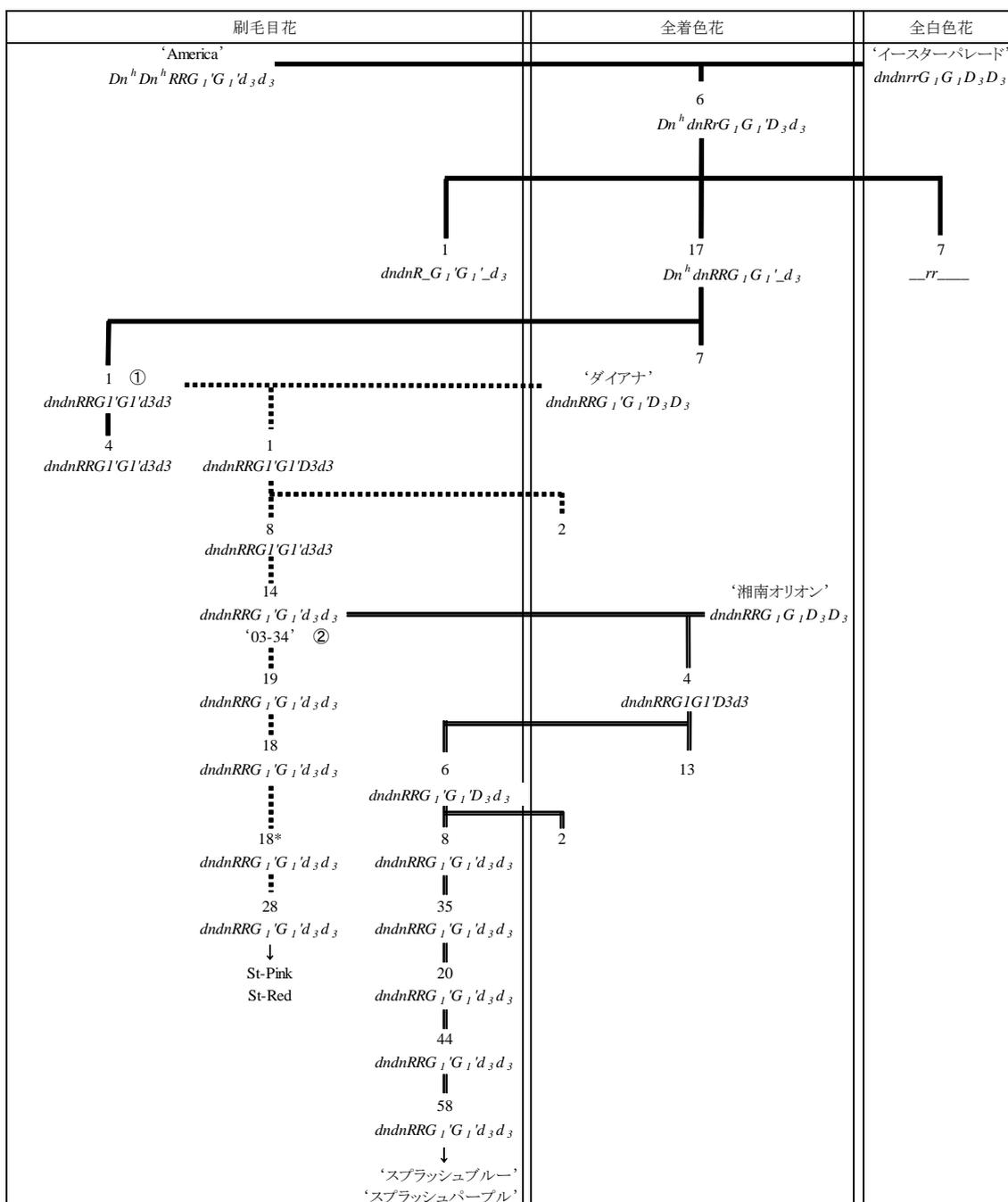


第4-2図 本研究で用いた冬咲き性吹きかけ花品種‘リップルピーチ’の育成系譜
 夏咲き性遺伝子は Dn^h ，冬咲き性遺伝子は dn ，着色遺伝子は A ，白色遺伝子は a ，全着色遺伝子は V ，吹きかけ遺伝子は v で表した。



第43図 冬咲き性・吹きかけ花の育成品種

A: 'リップルラベンダー', B: 'リップルショコラ', C: 'リップルピーチ'



第4-4図 本研究で用いた冬咲き性刷毛目花品種および系統の育成系譜

劣性の白色のR-white遺伝子はr, 優性の着色遺伝子はR, 夏咲き性遺伝子は Dn^h , 冬咲き性遺伝子はdnで表した. 遺伝子型は次の交雑親として選抜した1個体のもの,あるいは分離を示すために記載した.

実線は, 交雑aを, 波線は交雑bを, 二重線は交雑cを示す.



第45図 冬咲き性・刷毛目花の育成品種

A: 'スプラッシュブルー', B: 'スプラッシュパープル'

第5章 スイートピーの淡黄色色素の解析

1. 緒言

スイートピー (*Lathyrus odoratus* L.) は白色から濃紫青色まで多様な色彩の花をもつ品種が育成されている。これらの花の発色を担う主要色素はアントシアニンであり、これまで19種のアントシアニンの存在が示されている (Harbone, 1960 ; 坂田・上本, 1976) 。スイートピーの黄色花色に関しては淡黄色の品種があるのみで、濃黄色の品種は存在しない。淡黄色花色は夏咲き性品種群のみに存在しており、これらの品種は長日性のため日本での施設による切り花栽培に適さなかった。切り花品種の多様性を拡大するため、交雑・選抜育種により日本での栽培に適した冬咲き性で淡黄色の花色を持つ‘アルテミス’ (第 5-1 図) が育成された (山元, 1994, 1998) 。多くの植物の黄色花色はカロテノイドとフラボノイドによって発現している。バラやキク、パンジーなどの濃黄色花色の発現はカロテノイドによるものである。一方、カーネーションやシクラメンなどの淡黄色花色はフラボノイドが担っている。これまで、淡黄色のみを呈することから、スイートピーの黄色花色はフラボノイド色素により発現しているものと考えられてきた。スイートピーのフラボノイドとしてミリセチン、ケルセチンおよびケンフェロールの存在が報告されている (坂田・有隅, 1983) 。

トルコギキョウも黄色花色は淡黄色のみであったことから、黄色花色はフラボノイドによって発現していると思われてきた。Nakayama ら (2006) はトルコギキョウの淡黄色花色がカロテノイドにより発現していることを明らかにした。このことは、一般的に濃黄色花色を担うカロテノイドも低濃度で存在することで、淡黄色花色を呈する植物があること、さらにトルコギキョウでも濃黄色品種が育成できる可能性を示している。同様にスイートピーの淡黄色花色もカロテノイドが担っている可能性が出てきた。

スイートピーの淡黄色色素についての報告はないことから、本章では、‘アルテミス’の淡黄色花色の発現に関わっている色素を明らかにした。さらに他花色のスイートピー品種および

Lathyrus 属数種における淡黄色色素の存在についても検討した。

2. 材料および方法

1) 植物材料

淡黄色品種の‘アルテミス’，白色品種の‘イースターパレード’，‘ダイアナホワイト’，‘ローブデコルテ’，‘スイートスノー’ および‘Com-Pur・W’ 系統は神奈川県農業技術センターで保存しているものを用いた。‘Com-Pur W’ は‘367-1’ × ‘Wiltshire ripple’ の F₃ 世代の冬咲き性・全白色花個体に夏咲き性・全着色花の‘Maggie may’ を交雑し，その自殖後代から冬咲き性の全白色花を固定して育成した。淡黄色品種の‘ステラ’ は宮崎県農業総合試験場から分譲された種子を用いた。有色品種の，‘Annie good’，‘Candy man’，‘Geranium pink’，‘Jilly’，‘Susy’ ‘Red Engsin’， および‘Lord Nelson’ は種苗会社から購入し，自殖を繰り返して，形質分離が無いことを確認したものを用いた。スイートピー品種の花色および開花習性を第 5-1 表および第 5-2 図に示す。*Lathyrus* 属は東京農業大学から分譲された種子を神奈川県農業技術センターで栽培し，自殖させ保存していた *Lathyrus annuus*, *L. aphaca*, *L. basalticus*, *L. belinensis*, *L. blepharicarpus*, *L. gorgoni.*, *L. hirticarpus*, *L. pserdo-ciecera*, *L. sphaericus* を用いた。実験に用いた *Lathyrus* 属の花色を第 5-3 図に示す。

2) 栽培方法

スイートピー品種の種子は，常法により吸水・催芽し，春咲き性および夏咲き性品種は 2°C 暗黒でそれぞれ 4 週間，6 週間の種子冷蔵処理後に，冬咲き性品種は種子冷蔵処理をせずに 8 月下旬～9 月中旬にガラス温室内の栽培床，または 6 号鉢に直播した。*Lathyrus* 属の種子は常法により吸水・催芽し，6 号鉢に直播した。いずれも，自然光の下でガラス温室内を加温温度 5°C，換気温度 20°C の温度条件で栽培した。スイートピーは採花ステージで，*Lathyrus* 属は開花期に，開花している花から旗弁および翼弁を採取し，分析サンプルとして用いた。

3) 紫外光下および青色 LED 下での観察

福田ら (2005) および Nakayama ら (2006) の非破壊観察法を用いて淡黄色色素の性質を判別した。フラボノイド系色素の検討には、CSN-15 AC/AC (Cosmo BioCo. Ltd., Japan) の暗箱内に4本の波長 365 nm の紫外線ランプ (8 w) を点灯し、花の明暗像を観察した。カロテノイド系色素の検討には、LED パネル (LED-B 東京理科機器 (株)) を用いて 470 nm の波長の青色光を照射し、花の明暗像を観察した。

4) カロテノイドの HPLC 分析

‘アルテミス’ の開花花卉から、基部の緑部分を取り除いた旗弁および翼弁を液体窒素で凍結させた後、 -30°C で保存した。試料を弱アルカリ状態に保つように少量の炭酸マグネシウムを加えて、試料をエタノール中で乳鉢で破碎する操作を2回繰り返した。残渣にアセトンを加え同様の操作を2回繰り返し、淡黄色色素を抽出した。エタノールとアセトン抽出液を合わせて濃縮乾固した。酢酸エチルで溶解し、酢酸エチルと蒸留水との分画を3回行い、得られた酢酸エチル画分を無水硫酸ナトリウムで脱水し、濃縮乾固した。試料を二分し、一方に 5% KOH-MeOH を加え、室温で3時間放置しケン化処理を行った後、ジエチルエーテルおよび飽和食塩水を加えて分配し、上層のジエチルエーテル層を回収した。ジエチルエーテル層は蒸留水で2回洗浄した後に、濃縮乾固した。ケン化処理した試料および無処理の試料を酢酸エチルに溶解し、HPLC (Agilent HPLC 1100 system, Agilent Technologys Inc., USA) で分析した。カラムは Cosmosil 5C18 MS-II (Nacalai Co., Kyoto, Japan) を使用し、流速 $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ で、溶媒 A (90% アセトニトリル)、溶媒 B (酢酸エチル) とし、溶媒 B の濃度を 0-10 分間に 0-1%, 10-35 分間に 1-65%, 35-45 分間に 65-70%, 45-50 分間に 70-100% となるように直線的に勾配をかけて溶出した。フォトダイオードアレイ検出器を用い 300-600 nm の範囲の吸収スペクトルを検出した。カロテノイドは、検出されたピークのリテンションタイムと吸収スペクトルを標品と比較することで同定した。カ

カロテノイドの含有量は、440 nm の吸光面積に基づいて、ルテイン当量として算出した。

5) フラボノイド量の HPLC 分析

第2小花の旗弁および翼弁を採取し、液体窒素で凍結し、-30°Cで保存した。試料を10%酢酸で室温下、1晩かけて抽出する操作を2回繰り返し、抽出液を合わせ、HPLC分析に用いた。HPLC分析はAgilent HPLC 1100 systemを用いた。カラムはInertsil OSD-2 (4.6×250 mm) (GLScience Inc., Japan)を使用し、流速0.8 mL・min⁻¹、溶媒A (1.5%リン酸)、溶媒B (1.5%リン酸, 20%酢酸, 25%アセトニトリル)とし、40°Cで溶媒Bの濃度を0-40分に20-80%となるように直線的に勾配をかけ、300-600 nmの範囲の吸収スペクトルを検出した。フラボノイド含有量は360 nmの吸光面積に基づいて、ルチン当量として算出した。

6) 分光光度計によるカロテノイドの定量分析

スイートピーの有色品種および*Lathyrus*属数種のカロテノイド含量を測定した。開花花弁から旗弁と翼弁を採取し、新鮮重を測定後に液体窒素で凍結させ、-30°Cで保存した。凍結花弁をヘキサンで洗浄後、アセトンを加えて乳鉢で破碎する操作を2回繰り返した。残渣に酢酸エチルを加えて同様の操作を2回繰り返した。アセトンと酢酸エチル抽出液を合わせて濃縮乾固した。試料を酢酸エチルに溶解した後、蒸留水を加えて2度洗浄し、酢酸エチル層を無水硫酸ナトリウムで脱水した。脱水後に濃縮乾固し、80%酢酸エチル / 20%ヘキサンに再溶解した。これを、シリカゲルを充填したカラムを通過させて得られた溶出液を濃縮乾固した。試料を酢酸エチルに溶解し分光光度計 UV-2450 (島津製作所)を用いて446 nmの吸光度に基づいて、ルテイン当量として算出した。

3. 結果

1) 非破壊観察

‘アルテミス’ と白色品種 ‘ダイアナホワイト’, ‘ローブデコルテ’, ‘イースターパレード’, ‘スイートスノー’ および ‘Com-Pur W’ の花を暗箱内紫外光ランプ下で観察した.

‘アルテミス’ と白色の 5 品種・系統ともに旗弁および翼弁がやや暗い像が見られ, 像の明暗は品種・系統により差は認められなかった (第 5-4 図).

‘アルテミス’ と ‘ダイアナホワイト’ の花卉を暗箱内青色 LED 光下で観察した. LED 光下像は ‘ダイアナホワイト’ に比べ, ‘アルテミス’ でやや暗い像が観察された (第 5-5 図).

2) 淡黄色色素の溶解特性の検討

‘アルテミス’ の旗弁・翼弁から弱アルカリ状態でエタノールおよびアセトンを加えて抽出した黄色色素を酢酸エチルと蒸留水で分画したところ, 酢酸エチル層が濃黄色に着色した (第 5-6 図).

3) カロテノイドの HPLC 分析

‘アルテミス’ 花卉から抽出した黄色色素を HPLC により分析した. 加水分解した試料のクロマトグラムを (第 5-7 図 A) に示す. 検出された主要ピークのうち, 3 つのピークについては, 標品と比較した HPLC の保持時間と吸収スペクトルに基づいて, ルテイン, ゼアキサンチンおよび β -カロテノイドと同定した (第 5-2 表). ‘アルテミス’ 花卉に含まれるルテインは, 未同定ピークを含めた総カロテノイド量の 58%, ゼアキサンチンは 21% および β -カロテンは 6% でルテインが主要カロテノイドであった (第 5-2 表). 加水分解しなかった黄色色素のクロマトグラムは, 加水分解したものと異なり, ルテインや ゼアキサンチンによる明確なピークは認められなかった (第 5-7 図 B).

4) フラボノイドの HPLC 分析

紫外光の下で同程度の暗さの像が認められた‘アルテミス’と白色品種‘イースターパレード’, ‘ダイアナホワイト’, ‘ローブデコルテ’のフラボノイドを HPLC によって分析した. 吸光スペクトルの特性に基づいてフラボノイドと同定した化合物について, 365 nm の吸光度を基に定量した. ‘アルテミス’の花弁のフラボノイドは白色品種に比べて同程度かより低い濃度で含まれていた(第 5-3 表).

5) スイートピー花弁のカロテノイド量の測定

淡黄色以外の花色の品種の中で, 花弁抽出液にカロテノイドに特徴的な吸収スペクトルが検出された品種は, 鮮ピンクの‘Candyman’, 明紅の‘Geraniumpink’, 濃ピンクの‘Susy’および鮮橙赤の‘RedEnsign’であった. 鮮紫ピンクの‘Anniegood’および濃赤味紫の‘Lord Nelson’ではカロテノイドに由来すると考えられる吸収スペクトルは検出されなかった. 総カロテノイドの濃度はルテイン当量で‘アルテミス’は $8.1\text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}$ であり, ‘Jilly’は‘アルテミス’の 1/2, ‘Candyman’と‘Susy’は‘アルテミス’以上のカロテノイドを含んでいた(第 5-4 表).

黄色から橙色を呈する *Lathyrus* 属の花弁抽出液において, カロテノイドに特徴的な吸収スペクトルが検出された. 総カロテノイドの濃度は, *L. annus*, *L. belinensis*, *L. gorgoni* および *L. hirticarpus* で 7 ~20 倍量であった(第 5-5 表).

4. 考察

紫外光下で‘アルテミス’の淡黄色花とその他の品種の白色花が同程度の暗い像で観察されたことで, これらの品種は同程度の濃度のフラボノイドを含んでいることが示唆された. HPLC による分析で, ‘アルテミス’の花弁の総フラボノイド濃度は白色品種に比べて低いことを確認したことで, ‘アルテミス’の黄色がフラボノイド以外の色素によって担われていることが明らかになった.

青色発光ダイオードの下で観察すると‘アルテミス’の花は白色品種の花に比べて暗くみえたことで、‘アルテミス’の黄色発色を担う主要色素はカロテノイドであることが推測された。溶媒分画の結果、黄色色素がカロテノイドと同様に脂溶性であったことも、この可能性を支持した。HPLC 分析によって、淡黄色花の‘アルテミス’花卉色素の加水分解物から、ルテインを主要成分とし、ゼアキササンチンと β -カロテンを含むカロテノイドを検出した。このことから‘アルテミス’花卉の黄色発色を担う色素がカロテノイドであることが明らかになった。

スイートピーの他の品種におけるカロテノイドの分布を調べたところ、夏咲き性の淡黄色品種の‘Jilly’の他、鮮ピンクの吹きかけ模様のある‘Candyman’および濃ピンクの‘Susy’は‘アルテミス’以上の、明紅の‘Geranium pink’および鮮橙赤の‘Red Ensign’は微量のカロテノイドを含んでいた。淡黄色品種よりも高い濃度でカロテノイドを含む品種の存在が明らかになった。スイートピーの品種の中で、鮮紫ピンク品種の‘Annei good’および濃赤味紫‘Lord Nelson’にはカロテノイドは検出できなかった。カロテノイドの存在は淡黄色系および赤色系品種に限定されている。坂田・上本（1976）は、春咲き性スイートピー品種のアントシアニン色素組成についてデルフィニジン系（濃紫、藤色）、シアニジン系（濃赤、濃桃色）、ペラルゴニジン系（鮭肉色）およびペラルゴニジン系とシアニジン系の混在型（緋赤色）の4型があることを報告している。花色の表現型から‘Annie good’はシアニジン系、‘Lord Nelson’はデルフィニジン系、‘Susy’はペラルゴニジン系、‘Candy man’、‘Geranium pink’、および‘Red Ensign’はペラルゴニジン系とシアニジン系の混在型であると推定される。今回調べた品種ではペラルゴニジン系アントシアニンを含む品種のみがカロテノイドを含んでいた。

カロテノイドはアントシアニンとは異なる経路で生合成されるテルペノイドに属する化合物群であることから、それぞれの生合成は独立して制御できることが期待される一方で、連鎖によってそれぞれの生合成関連遺伝子の発現に制限がかかることも予想される（第5-8図）。今回の結果から、カロテノイドは少なくともペラルゴニジン系のアントシアニン

と共存できることが明らかになった。スイートピー園芸品種は自生種の *Lathyrus odoratus* の種内変異で育成されてきた (Murray ら, 1992 ; Nakamura ら, 2010) と考えられている。自生種が持つアントシアニン色素組成はデルフィニジン系であり, 変異個体の選抜やそれらを用いた交雑によりシアニジン系, ペラルゴニジン系およびシアニジン系とペラルゴニジン系の混在型が育成されたと推測できる。ペラルゴニジン系アントシアニンとカロテノイドの生合成の連鎖性は興味ある問題である。

本研究で淡黄色花卉から同定したカロテノイドは, 葉などの緑色組織に普遍的に存在している化合物である (第 5-8 図)。通常これらの緑色組織のカロテノイドはエステル化を受けていない。加水分解の前後で HPLC のクロマトグラフが変化することから, スイートピーの花弁のカロテノイドは脂肪酸によるエステル体と考えられる。多くの植物においては, 花に含まれるカロテノイドはエステル化を受けていることが知られている (大宮・山溝, 2010)。スイートピーの花弁でも同様に, カロテノイドをエステル化する代謝が行われている。

スイートピーでは白色花は黄色花に対して, 優性の遺伝様式を示すとされている。同様な遺伝様式はキクでも認められる。キクでは白色花・黄色花品種ともに同じようにカロテノイドが生合成されており, 白色品種ではカロテノイド酸化開裂酵素 (CmCCD4a) により合成されたカロテノイドが分解されている一方で, 黄色品種では CmCCD4a の活性が抑制されることでカロテノイドが蓄積する (Ohmiya ら, 2006)。スイートピー花弁でも同様に, カロテノイドの分解活性の低下がカロテノイドの蓄積と黄色の発色に関与している可能性が考えられる。本来, 蕾に含まれるカロテノイドは開花が進むにつれて, 分解されるが, カロテノイドの分解活性の低下により花弁に残り, 開花ステージが進むに従いエステル化を受け, 淡黄色を呈するようになったのかもしれない。

スイートピー淡黄色の主要色素のルテインは, マリーゴールドやヒマワリの黄色の主要なカロテノイドである (大宮, 2011)。淡黄色品種やアントシアニンとカロテノイドが共存する品種を交雑親に用いてカロテノイドの蓄積量が高まれば, 濃黄色花色を発現する品種が育成できる可能性が現れた。

スイートピーと同属のスイートピーと同じ *Lathyrus* 属の中には‘アルテミス’の20倍以上の高濃度でカロテノイドを含んでいる種があった。特に高い濃度を示した *L. annus*, *L. gorgoni* に含まれるカロテノイドの分子種は不明であり、花色とカロテノイド量および分子種との関連を検討する必要がある。スイートピーの濃黄色花色品種を作出するため、これらの *Lathyrus* 属との種間交雑が考えられる。Hammett ら (1994) は *L. belinensis* が交雑親となること、さらに胚珠培養を組み合わせると雑種が得られることを示した。得られた種間雑種の花色はクリーム色で花弁中央部が濃かったとされる。また、*L. cassius*, *L. hirsutus* および *L. choranthus* との交雑で種子が得られたことが報告 (Khawaja, 1988; Murray ら, 1993) されているが、その他の種との交雑では雑種個体を得るに至っていない。マメ科の自殖性植物である *Lathyrus* 属では、種間の遺伝的距離が離れていることが推測され、雑種受精胚の発育が停止することが多い。種間雑種獲得のためには胚珠培養などの技術を確立する必要がある。

第5-1表 本研究で用いたスイートピー品種の開花習性および花色

品種名	開花習性 ^z	花色 ^y
アルテミス	冬咲き性	淡黄
イースターパレード	冬咲き性	白色
ダイアナホワイト	冬咲き性	白色
ローブデコルテ	冬咲き性	白色
スイートスノー	冬咲き性	白色
Com-Pur W ^x	冬咲き性	白色
ステラ	春咲き性	淡黄
Annie good	夏咲き性	鮮紫ピンク
Candyman	夏咲き性	鮮ピンク
Geranium pink	夏咲き性	明紅
Jilly	夏咲き性	淡黄
Lord Nelson	夏咲き性	濃赤味紫
Susy	春咲き性	
Red Ensign	夏咲き性	鮮橙赤

^z 冬咲き性；無春化・自然日長，8月下旬播種で年内開花，春咲き性；播種翌年2～4月に開花，夏咲き性；播種翌年5月以降開花

^y 日本園芸植物標準色票に基づく色名，‘Candy man’は吹きかけ花状斑の色を示す

^x ‘367-1’×‘Whiltshire ripple’のF₃(冬咲き性・全白色花)に‘Maggie may’(夏咲き性・全着色花)を交雑して育成

第5-2表 淡黄色花卉から同定されたカロテノイド量

カロテノイド	HPLC Rt(min)	λ_{\max} in AcOEt(nm)	総カロテノイドに占める割合
Unknown1	14.5		9.1%
ルテイン	17.4	424, 448, 476	58.3%
ゼアキサンチン	17.9	428, 454, 481	21.5%
β -カロテン	34.0	430, 456, 482	6.2%
Unknown2	34.2		4.9%

第5-3表 白色花および淡黄色花花弁に含まれる総フラボノイド量

品 種	総フラボノイド量 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}^z$
イースターパレード	2.07 ± 0.04
ローブデコルテ	2.52 ± 0.06
ダイアナホワイト	4.19 ± 0.23
アルテミス	1.94 ± 0.12

^zルチン当量

第5-4表 スイートピー品種花卉に含まれる総カロテノイド量

品種名	総カロテノイド量
	nmol・g ⁻¹ FW ^z
アルテミス	8.09 ± 1.30
Annie good	— ^y
Candyman	11.21 ± 0.26
Geranium pink	1.30 ± 0.12
Jilly	4.26 ± 0.39
Lord Nelson	—
Susy	15.58 ± 1.49
Red Ensign	5.46 ± 0.83

^zルテイン当量

n=3, 平均値±標準誤差

^y未検出

第5-5表 *Lathyrus* 属花卉に含まれる総カロテノイド量

種・品種名	総カロテノイド量 nmol·g ⁻¹ FW ^z
<i>L.annus</i>	169.7
<i>L.belinensis</i>	55.8
<i>L.gorgoni</i>	143.7
<i>L.hirticarpus</i>	60.6
アルテミス	8.1

^zルテイン当量



第 5-1 図 冬咲き性淡黄色品種および白色品種

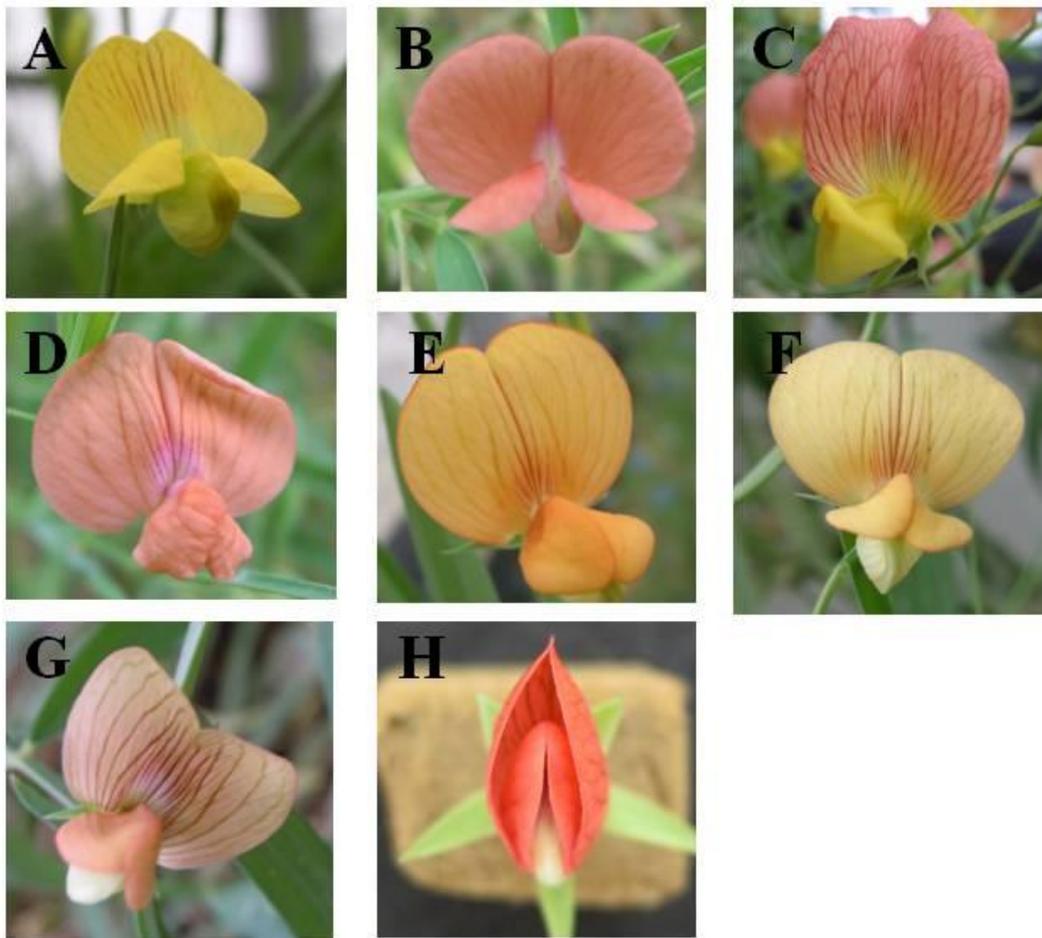
A: ‘アルテミス’, B: ‘ダイアナホワイト’



第 5-2 図 本研究でカロテノイドの定量に用いたスイートピー品種の花の色

A : Annie good, B : Candyman, C : Geranium pink, D : Jilly,

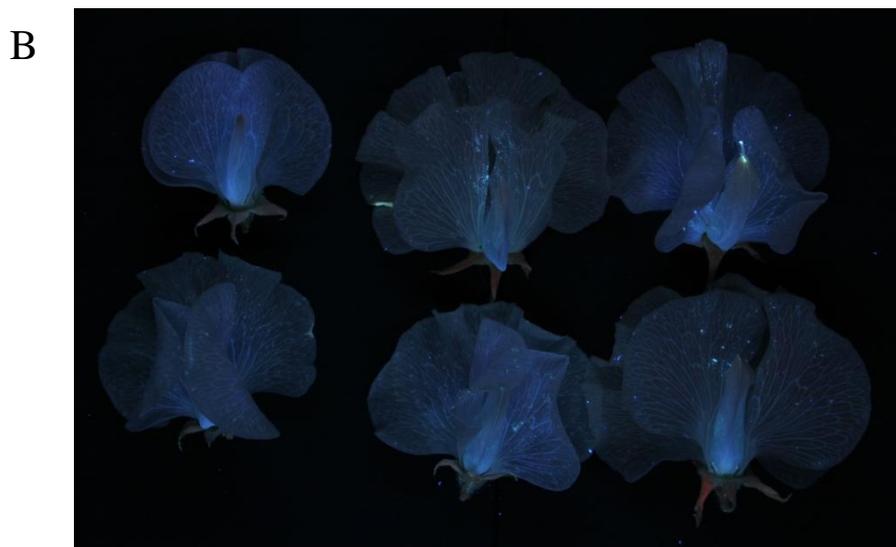
E : Lord Nelson, F : Red Ensign, G : Susy



第 5-3 図 本研究でカロテノイドの定量に用いた *Lathyrus* 属の花の色

A : *L. annus*, B : *L. basalticus*, C : *L. belinensis*, D : *L. blepharicaropus*,

E : *L. gorgoni*, F : *L. hirticarpus*, G: *L. pseudo-cicera* , H : *L.sphaericus*



第 5-4 図 白色品種及び‘アルテミス’の可視光下像 (A) および紫外光下像 (B)

1: ‘スイートスノー’, 2: ‘ローブデコルテ’, 3: ‘アルテミス’,

4: ‘ダイアナホワイト’, 5: ‘イースターパレード’, 6: ‘Com-Pur W’



第 5-5 図 ‘アルテミス’ (左) と ‘ダイアナホワイト’ (右) 花卉

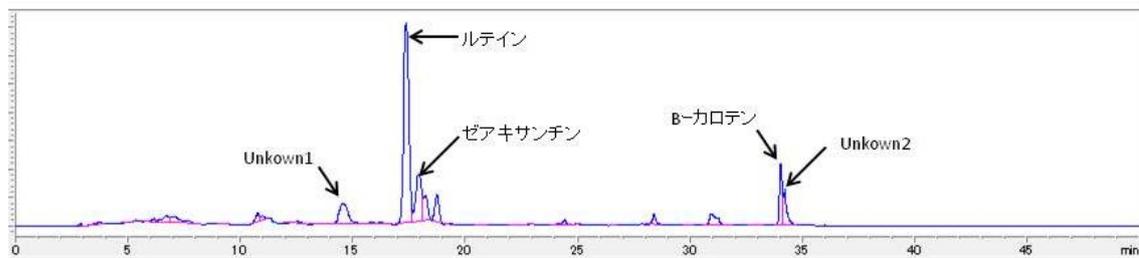
A : 可視光下像, B : 青色 LED 光下像



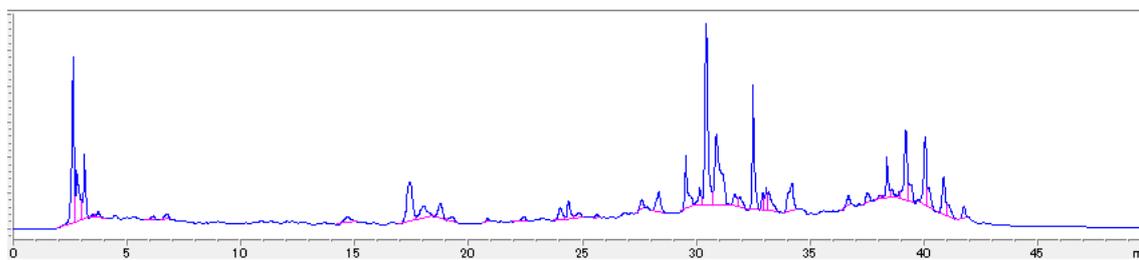
第 5-6 図 ‘アルテミス’ 淡黄色色素の溶解特性

上層：酢酸エチル層，下層：水層

A

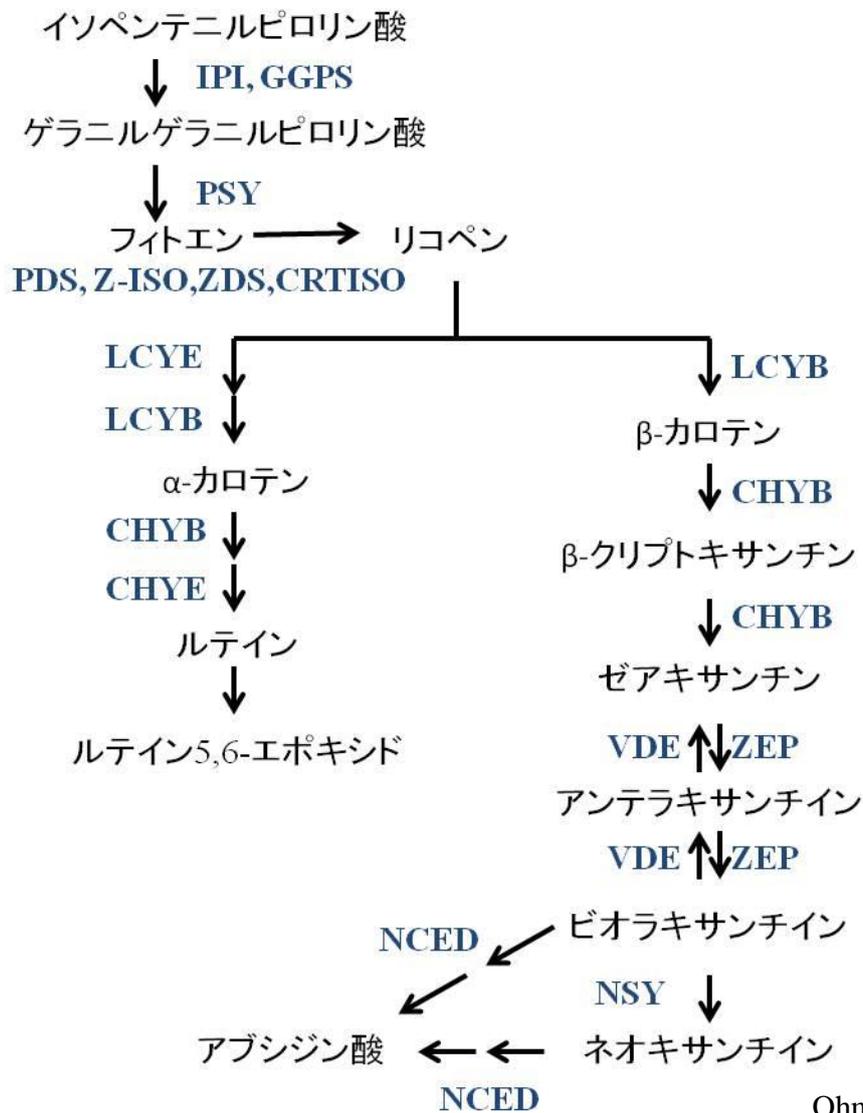


B



第 5-7 図 ‘アルテミス’ 淡黄色色素の HPLC クロマトグラム

A ; 加水分解, B : 非加水分解



Ohmiya,2011 改変

第 5-8 図 植物のカロテノイドの生合成経路

IPI, イソペンテニルピロリン酸異性化酵素 ; GGPS, ゲラニルゲラニルピロリン酸合成酵素 ; PSY, フィエトン合成酵素 ; PDS, フィトエン不飽和化酵素 ; Z-ISO, 15-cis-ζ-CRISO ; ZDS, ζ-カロテン不飽和化酵素 ; CRTISO, カロテノイド異性化酵素 ; LCYE, リコペン ε-環化酵素 ; LCYB, リコペン β-環化酵素 ; LCYE ; ε-環水酸化酵素 ; ZEP, ゼアキサンチンエポキシ化酵素 ; VDE ; ビオラキサンチン脱エポキシ化酵素 ; NSY, ネオキサンチン合成酵素

第6章 総合考察

日本での施設切り花生産に適した中性の日長反応を示す冬咲き性のスイートピー品種群の多様性を拡大するために、長日性の夏咲き性品種群の持つ花卉の斑入り形質の導入を試みた。本博士論文研究において対象とした斑入り形質は、花卉の旗弁と翼弁に糸覆輪と背軸側のみ細かい斑が発現する吹きかけ形質と、旗弁と翼弁の向軸側と背軸側の両面に刷毛目状の斑が発現する刷毛目形質である。研究の結果、吹きかけ模様が発現するには、吹きかけ形質を制御する遺伝子座の劣性の1遺伝子と、着色性を制御する遺伝子座の優性の1遺伝子の両方を必要とすること、ここでは劣性ホモで白色となる着色遺伝子が、劣性上位で吹きかけ形質の発現を抑制していることを明らかにした。さらに冬咲き性を制御する開花習性、吹きかけ形質、着色性を制御する遺伝子座が互いに独立の関係にあることを明らかにした。一方の刷毛目模様が発現するには、刷毛目性を制御する複対立遺伝子座の1遺伝子 G_1' と、着色密度を制御する遺伝子座が d_3d_3 または D_3d_3 のいずれか、あるいは刷毛目性遺伝子座の別の1遺伝子 G_1'' を必要とすることが示されていた。刷毛目形質が発現しない冬咲き性品種群には d_3 および G_1'' 遺伝子が存在しないことを明らかにした。また、これらの遺伝子座に対しても開花習性を制御する遺伝子座および着色性を制御する遺伝子座は独立の関係にあることが示された。

スイートピーでは白色花の原因遺伝子として、それぞれの遺伝子座がヘテロの場合に着色する補足遺伝子の関係を持つ2つの遺伝子座を持つ (Bateson ら, 1904) 。Punnett は補足遺伝子として *R-white* と *C-white* を示し、刷毛目形質遺伝子座の劣性遺伝子 g_1 と *C-white* は同一のものであるとしている (Punnett, 1923, 1936) 。冬咲き性品種群の吹きかけ形質および刷毛目形質の遺伝様式を解明する過程で、冬咲き性の白色花も2つの補足遺伝子により制御されていることを明らかにした。吹きかけ形質に対しては、*R-white* と *C-white* は共に上位性をもって劣性に制御することを明らかにした。刷毛目形質に対しては、*R-white* は吹きかけ形質に対するものと同様に上位性をもって劣性に制御する一方で、*C-white* は通常の劣性遺伝子として制御することを明らかにした。白色品種

と模様品種の交雑で発生する複雑な遺伝様式を整理することができたことは、本研究の成果である。

関連遺伝子の優劣性や独立性さらに上位性が明らかになったことで、目的とする冬咲き性および模様の表現型の固定を判断する基準が明確になった。すなわち、劣性の形質はその形質が発現した世代で固定され、優性の形質は自殖後代が全てその形質を示す世代で固定されたと判断できる。それぞれの形質は独立した遺伝子座で制御されるために、それぞれの形質同士は別の世代でも同じ世代でも固定することができる。1つの遺伝子座の劣性遺伝子により制御されている形質は、交雑で遺伝子導入後に最低1回の自殖をおこない、出現した劣性形質を選抜することで優性遺伝子を排除することが可能である。一方で優性遺伝子により制御されている形質は、自殖を最低2回繰り返して、2世代の表現型に劣性形質が分離しないことから劣性遺伝子の排除を確認することが必要となる。

本研究の成果は、スイートピーの花の色に関しては、複雑な遺伝様式を示す形質でも、多くの場合は少数の主働遺伝子によって支配されている可能性を示している。表現形質と遺伝子型との関連をメンデルの法則に従って理解することができる。スイートピーは自殖性の2倍体植物であることから、既存の固定品種は全ての遺伝子を純系ホモで持つ。このことは遺伝解析を行うための非常に有利な性質である。一方で、主要花きには栄養繁殖性のものも多く、遺伝的に雑多な状態になっていると推定される。このような品目の形質は複雑な遺伝様式を示すと予想される。実際に多くの品目の花の色の遺伝様式は解析されずにいる印象がある。こういった品目においても、形質の遺伝様式と関連する遺伝子座の性質を、メンデルの法則とそのバリエーションに基づいて改めて解析していくことが、遺伝様式の理解、ひいては理論的に育種を行うための有効な手段であるように思われる。

本研究で対象とした吹きかけ模様および刷毛目模様を示す花卉の組織では着色細胞と白色細胞が塊で混在しており、着色の有無で明確に区分することができた(第24図および第34図)。花の模様は多様であり、代表的なものとして星形模様、覆輪模様、絞り模様および扇状模様などがある(第6-1図)。多くの植物において模様の発現が認められるが、その形成機構は、アン

トシアニンの構造や生合成遺伝子についての情報が蓄積されているペチュニア、カーネーションおよびアサガオなどに限られている(中山, 2009). 代表的な模様である覆輪模様と扇状模様では模様を構成する着色細胞と白色細胞の分布の様相が異なっている. ジーンサイレンシングによって形成されるペチュニアの覆輪模様では着色部から白色部にかけて着色の濃淡が連続的に変化する(第6-2図), (Morita ら, 2012 ; Saito ら, 2007). 一方, トランスポゾンによって形成される扇状模様は, 着色部と白色部が明確に区分される(第6-2図) (Itoh ら, 2002). スイートピーで見られる吹きかけ模様および刷毛目模様の着色細胞・白色細胞の分布の様相はトランスポゾンに起因する扇状模様に類似していた(第2-4図Bおよび第3-4図B).

アサガオの扇状模様(第6-1図)では, アントシアニン色素の生合成に関わるジヒドロフラボノール4リダクターゼ(DFR)遺伝子に挿入したトランスポゾン *Tpn1* が離脱することにより, DFR が再活性化して着色細胞が形成され(第6-3図), この細胞が分裂してできる細胞系譜が着色部として観察される. 離脱したトランスポゾンが同じ遺伝子に再挿入することはまれであり, 着色部と白色部が相互に変換しているような表現型の発現を説明することは困難である. 西島ら(2013)はトレニアにEMS処理して得た, 紫色のスポットやセクターを生じる易変性変異体「雀斑」では, 形質は不安定であり, トランスポゾン *Tf1* が挿入した *R2R3-MYB* 転写因子遺伝子がホモ接合になることで斑入り形質が生じることを示した. また, ソライロアサガオの‘フライングソーサー’に見られる刷毛目紋(第6-1図)では形質は比較的安定で, 着色部の中に白色部が混在し, 着色部と白色部が相互に変換しているような表現型となっている(定塚ら, 2008). スイートピーの斑入り模様は安定して発現し, 観察される着色部と白色部の様相は, ‘フライングソーサー’の刷毛目紋に類似していると考えられる.

‘フライングソーサー’ではDFRのプロモーター領域にトランスポゾン *ItMULE1* が挿入していた. ‘フライングソーサー’においては, *ItMULE1* の挿入によって誘発されるDFRのプロモーター領域のメチル化が刷毛目紋の発現に関与しているという説が提唱されている(Iida ら, 2004 ; 星野・木下, 2007 ; 定塚ら, 2008). この説においては, プロモーター領域においてメチル化と脱メチル化がランダムかつ可逆的に起こるとされる. プロモーター領域がメチル化され

ると、DFRの転写が抑制されることでアントシアニンの生合成が不活性化し、白色細胞が形成される。このプロモーター領域が脱メチル化されると、DFRの転写が活性化されることでアントシアニンの生合成が活性化し、有色細胞が形成される（第6-3図）。スイートピーでも同様な機構で模様が形成されている可能性がある。吹きかけ形質と刷毛目形質の性質の違いは、異なるアントシアニン生合成関連遺伝子がメチル化の標的となっている可能性や、異なる種類のトランスポゾンが関与していることに起因しているのかもしれない。

アントシアニン生合成は、生合成経路、関連する遺伝子の解析が進んでいる（Holton and Cornish, 1995）。スイートピーのフラボノイドとしてミリセチン、ケルセチンおよびケンフェロールといったフラボノールの存在が報告されている（坂田・有隅, 1983）。異なる白色遺伝子により制御されている白色品種の‘ダイアナホワイト’と‘イースターパレード’および‘ローブデコルテ’から、同程度の濃度のフラボノールを検出している（第5-3表および第5-4図）。R-whiteとC-whiteによって抑制されるアントシアニンの生合成段階は、DFRより下流にあることが推測される（第6-4図）。C-white遺伝子を特定し、G₁遺伝子座の特徴を解析することで、刷毛目形質が発現する機構についての知見が得られるものと期待される。

本研究では、神奈川県育成の‘アルテミス’を用いて、スイートピーの淡黄色花色色素がカロテノイドであることを明らかにした。赤色および紫色の発色を担う色素がアントシアニンであることから、黄色色素の生合成は赤色や紫色色素の生合成とは、異なる制御の基に置くことができることが明らかになった。一方でカロテノイドによる黄色の発色が、ペラルゴニジン系アントシアニンと同時に発現できることも示された。これらのことから、アルテミスなどの淡黄色品種との交配によって、淡黄色を下地にしたペラルゴニジン系のピンク色の吹きかけ模様あるいは刷毛目模様をもつ、新しい品種の育成の可能性が示された。その実現のためには黄色発色形質の遺伝様式、すなわち関連遺伝子座の数や優劣性についての解明が要求されると考えられる。それによって表現型の固定を確認するのに必要な自殖世代数、目的形質を有する個体の出現数を想定し、選抜集団の大きさなどを想定することで、効率的・効果的な品種育成が可能となると考えられる。

本研究で示したように開花習性, 着色性, 斑入り形質が異なる夏咲き性・吹きかけ花と冬咲き性・白色花の交雑の場合, F_2 で冬咲き性・吹きかけ花個体が出現する期待値は $3/64$ であり, F_2 で冬咲き性・全着色花を選抜して冬咲き性を固定し, F_3 で吹きかけ花が出現する期待値は $7/64$ である. 品種の育成においては, 交雑後に少ない年数で選抜・固定を図るには期待値に基づいて対象選抜集団を設定する必要がある. しかし, 実際にスイートピーの育種を行うに際しては, 表現型を確認し, 草勢を維持して採種を行うには栽培管理に労力がかかり, また, 1個体から採種できる種子数も少ないため, 大きな分離集団を作ることは労力上難しい. 年数はかかるものの, 小さい選抜集団で1形質ごとに固定を確認し, 遺伝子型の固定を図ることが有効であると考えられる.

スイートピー品種の多くは個人育種家や公的研究機関によって育成されており, 形質発現や遺伝性に関する情報は散在している. 第3章において示したように冬咲き性品種群の刷毛目性を制御する遺伝子座には複対立遺伝子の G_I , G_I' , g_I が存在し, 全着色花品種の中には, 刷毛目性を制御する遺伝子座を $G_I G_I$ で持つものと $G_I' G_I'$ で持つものがあるが表現型から区別することはできない. また, 劣性遺伝子がホモの場合に白色花となる2つの遺伝子座を表現型から区別することはできない. 刷毛目形質の遺伝様式で示したように遺伝子の種類によって単純な劣性遺伝子として振る舞う場合と, 白色化により表現型の発現を抑制する場合で遺伝様式は異なる. 交雑親の選定のためには有用な形質発現に関する品種の遺伝子型を明らかにし, 整理する必要がある. 本研究の成果を基に品種ごとの形質・遺伝子型の集約, 情報の共有化をとおして, 日本の栽培に適した切り花用品種の育種が理論的・効率的に進むことを期待したい.

A



B



C

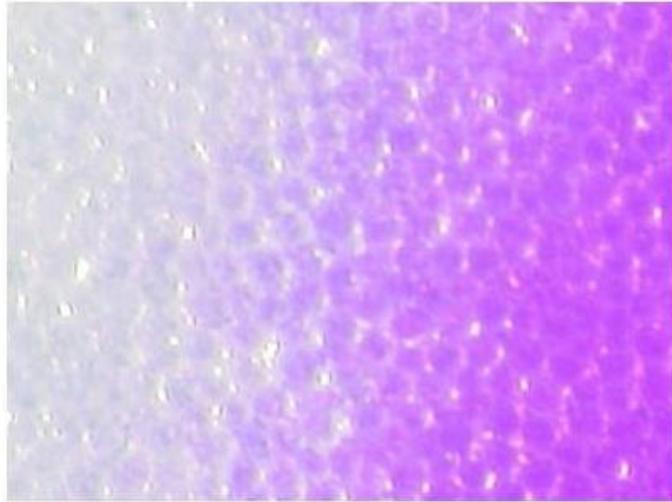


第6-1図 花の模様

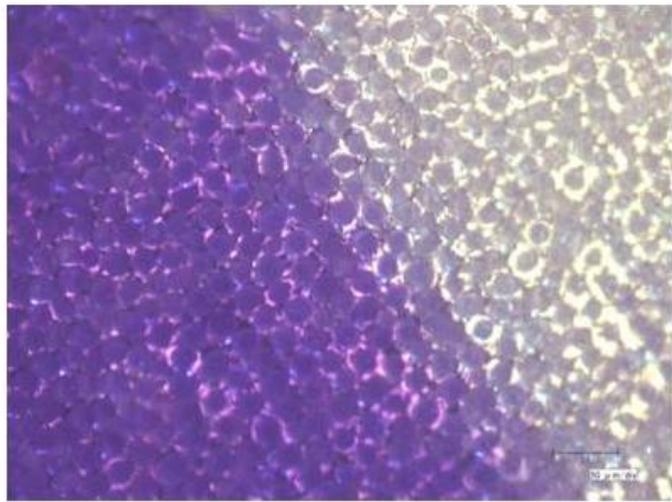
A：ペチュニアの覆輪模様，B：アサガオの扇状模様，

C：ソライロアサガオ‘フライングソーサー’の刷毛目紋

A

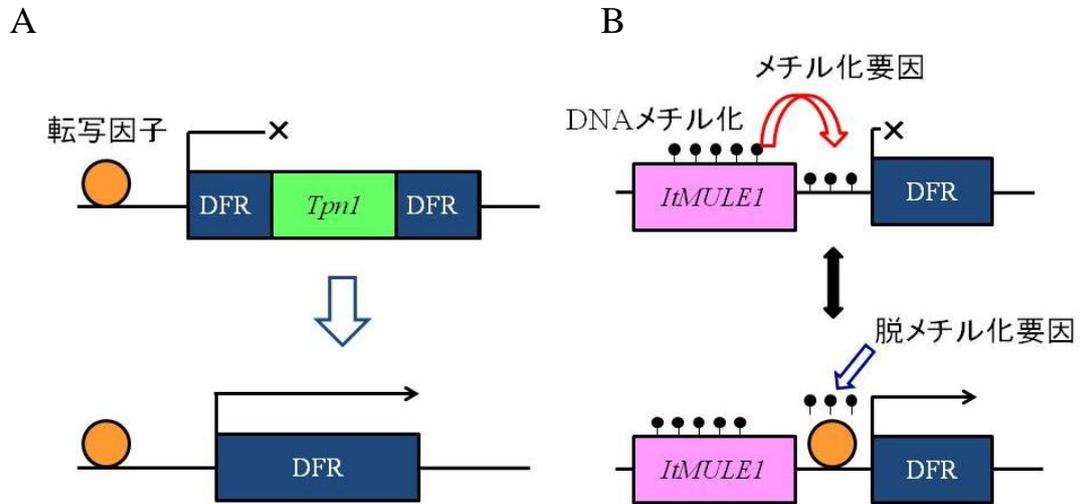


B



第6-2図 花卉の模様境界部の着色の様相

A：ペチュニアの覆輪模様，B：アサガオの扇状模様



星野ら,2007 改変

第6-3図 トランスポゾンの転移およびメチル化と色素合成遺伝子の発現との関係

DFR, ジヒドロフラボノール4リダクターゼ ; *Tpn1*・*ItMULE1*, トランスポゾン

A : トランスポゾンの離脱により DFR 遺伝子の発現が回復する,

B : DFR 遺伝子のプロモーター領域のメチル化がランダムかつ可逆的に起こる

引用文献

- Bateson, W., E. R. Saunders, R. C. Punnett. 1904. Experimental studies in the physiology of heredity. Reports to the evolution committee of the royal society. Report. 80-99.
- 土居典秀・鴻野伸輔. 1996. 春咲きスイートピー品種‘シンフォニー・チェリー’‘シンフォニー・ホワイト’の育成. 岡山農試研報 14:41-47.
- 福田直子・宮坂昌美・斉藤涼子・朽津和幸・中山真義. 2005. トルコギキョウ白色系生花卉の紫外光下における明暗像とフラボノイド含量との関係. 園学研. 4:147-151.
- Hammet, K. R. W., B. G. Murray, K. R. Markham and I. C. Hallett. 1994. Interspecific hybridization between *Lathyrus odoratus* and *L. belinensis*. Int. J. Plant Sci. 155:763-771.
- 半田 貴. 2002. スイートピー栽培の経済性基準指標の策定. 神奈川農総研平成 13 年度試験研究成績書 (経営情報). 11-14.
- Harborne, J. B. 1960. Flavonoid pigments of *Lathyrus odoratus*. Nature, London. 187: 240-241.
- Holton, T. A. and E. C. Cornish. 1995. Genetics and biochemistry of anthocyanin biosynthesis. Plant Cell. 7:1071-1083.
- 星野敦・木下哲. 2007. 反復配列・DNA メチル化により制御される植物の生命現象. 化学と生物. 45:119-125.
- Iida, S., Y. Moria, J. D. Choi, K. I. Park and A. Hoshino. 2004. Genetic and epigenetics in flower pigmentation associated with transposable elements in morning glories. Adv. Biophys. 38:141-159.
- Imai, Y. and Y. Iinuma. 1938. Variation in the flaked lines of *Lathyrus odoratus*. J. Genet. 35:180 421-430.
- 井上知昭. 1981. 湘南のスイートピー. 湘南温室組合. 神奈川.
- 井上知明. 1996. [わが国花き生産の現状と動向] スイートピー. 農業及び園芸. 71 (1) : 195-200. 東京.
- 井上知昭・小池安比古・三浦泰昌・樋口春三・佐々木久章. 2000. スイートピーの自生地における生育開花と系統ならびに品種分化. 日農教誌. 31: 67-74.
- 井上知昭・岩崎 徹・永岡総一郎・鈴木重俊・小池安比古・三浦泰昌・樋口春三. 2001a. スイート

- トピーの春咲き系および夏咲き系品種の種子春化と長日処理効果による新冬作型の開発. 東農大農学集報. 45 : 295-304.
- 井上知昭・小池安比古・黒田 祐・三浦泰昌・鈴木重俊・樋口春三. 2001b. スイートピー3 系統の開花に及ぼす播種期と長日処理の影響. 日農教誌. 32:1-9.
- 井上知昭. 2007. スイートピーをつくりこなす. 農山漁村文化協会. 東京.
- 石原義啓・大川清・兵藤宏. 1991. スイートピー切り花の老化とエチレン生成. 園学雑. 60:141-147.
- 磯野直秀. 2007. 明治前園芸植物渡来年表. 慶応義塾大学日吉紀要・自然科学 42, 27-58.
- Itoh, Y., D. Higeta, A. Suzuki, H. Yoshida, and Y. Ozeki. 2002. Excision or transposable elements from the chalcone isomerase and dihydroflavonol 4-reductase genes may contribute to the variegation of the yellow-flowered carnation (*Dianthus caryophyllus*). Plant Cell Physiol. 43:578-585.
- 定塚 (久富) 恵世・星野敦・森田裕将・山内卓樹・朴慶一・寺田理枝・森藤暁・飯田茂. 2008. アサガオとイネの DNA メチル化と遺伝子発現. 植物工学別冊 24 : 36-43. 東京.
- Khawaja, H. I. T. 1988. A new interspecific *Lathyrus* hybrid to introduce the yellow flower character into sweet pea. Euphytica 37:69-75.
- Little, T. M. and J. H. Kantor. 1941. Inheritance of earliness of flowering in the sweet pea. J. Hered. 32:379-383.
- Mor, Y., M. S. Reid and A. M. Kofranek. 1984. Pulse treatments with silver thiosulfate and sucrose improve the vase life of sweet peas. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 109 : 866-868.
- Murray, B. G, K. R. W. Hammett and L. S. Standring. 1992. Genomic constancy during the development of *Lathyrus odoratus* cultivars. Heredity 68:321-327.
- Murray, B. G , K. R.W. Hammett, J. F. Herrick. 1993. Relationship between *Lathyrus cassius*, *L. odoratus*, *L. hirsutus* assessed by experimental hybridization, analysis of meiotic pairing, and DNA:DNA hybridization. Int. J. Plant Sci. 154:163-168.
- 中村 薫・柴田和美・八反田憲生・村田壽夫・郡司定雄・富永 寛・高橋英生. 2006a. スイートピー新品種 ‘シルキー・ピーチ’ の育成. 宮崎県農総試研報 41:131-140.

- 中村 薫・柴田和美・八反田憲生・村田壽夫・郡司定雄・富永 寛・高橋英生. 2006b. スイートピー新品種 ‘シルキー・チェリー’ の育成. 宮崎県農総試研報 41:141-150.
- Nakamura, K., T. Sugita, H. Tanaka and R. Akashi. 2010. Genetic relationship among sweet pea cultivars and related species by AFLP analysis. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 79:360-366.
- 中山真義. 2009. 花の模様の形成機構. 植物の生長調節 44: 85-93.
- Nakayama, M., M. Miyasaka, T. Maoka, M. Yagi and N. Fukuta. 2006. A carotenoid-derived yellow eustoma screened under blue and ultraviolet lights. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 75: 161-165.
- 日本花き取引コード普及促進協議会. 2010. 花き品種別流通動向分析調査. 財団法人日本花普及センター. 東京.
- Nishijima, T., Y. Morita, K. Sasaki, M. Nakayama, H. Yamaguchi, N. Ohtsubo, T. Niki and T. Niki. 2013. A *Torenia* (*Torenia fournieri* Lind. ex Fourn.) novel mutant ‘Flecked’ produces variegated flowers by insertion of a DNA transposon into an *R2R3-MYB* gene. J. Japan. Soc. Hort. Sci 82:39-50.
- 農林水産省大臣官房統計部. 2006. 分析指標 農産物算出額の順位と構成費, 平成 18 年度生産農業所得統計. 164-195. 農林水産省大臣官房統計部. 東京.
- Ohmiya, A., S. Kishimoto, R. Aida, S. Yoshioka and K. Sumitomo. 2006. Carotenoid cleavage dioxygenase (CmCCD4a) contributes to white color formation in Chrysanthemum petals. Plant Physiol. 142:1193-1201.
- 大宮あけみ・山溝千尋. 2010. 花卉におけるカロテノイドの蓄積制御機構. 化学と生物. 48:93-99.
- Ohmiya, A. 2011. Review Diversity of carotenoid composition in flower petals. JARQ 45:163-171.
- Parsons, R. 2011. Sweet peas an essential guide. The crowood press. Wiltshire.
- Punnett, R. C. 1923. Linkage in the sweet pea. (*LATHYRUS ODORATUS*). J. Genet. 13: 101-123.
- Punnett, R. C. 1936. The flaked sweet pea. J. Genet. 32 : 171-177.
- Punnett, R. C. 1940. Notes on the D-chromosome of the sweet pea. J. Gene. 39: 301-308.
- Rice, G 2002. The Sweet Pea Book. B T Batsford. London.
- Ross, J. J. and I. C. Murfet. 1985. Flowering and branching in *Lathyrus odoratus* L. : Environmental and

Genetic Effects. Ann. Bot. 55:715-726.

Saito, R., K. Kuchitsu, Y. Ozeki and M. Nakayama, 2007. Spatiotemporal metabolic regulation of anthocyanin and related compounds during the development of marginal picotee petals in *Petunia hybrid* (Solanaceae). J. Plant Res. 120:563-568.

坂田祐介・上本俊平. 1976. スイートピーの花色に関する研究 (第1報) 春咲種のアントシアニン色素生成について. 園学雑. 45:181-186.

坂田祐介・有隅健一. 1983. スイートピーの花色に関する研究 (第2報) 種々の品種群のアントシアニンおよびフラボノール色素構成について. 鹿大農学術報告. 33:13-19.

柳下良美・山元恭介. 2004. スイートピー新品種‘湘南オリオン’. 神奈川農総研報. 145:15-19.

柳下良美・山元恭介. 2005. リップルランベンダー. 品種登録 12874.

柳下良美・山元恭介. 2006a. リップルピーチ. 品種登録 13790.

柳下良美・山元恭介. 2006b. リップルショコラ. 品種登録 13791.

柳下良美・山元恭介. 2007. スイートピー新品種‘リップルシリーズ’. 神奈川農技セ研報. 149:7-16.

柳下良美・原靖英・中山真義. 2013. スイートピーの花の斑入り形質の発現は着色遺伝子によって劣性上位で抑制される1つの劣性遺伝子に制御される. 園学研. 12:125-130.

山元恭介. 1993. スイートピーの育種に関する研究 第1報 品種間の交配による F_1 , F_2 及び F_3 の諸形質. 神奈川園試研報 43:83-90.

山元恭介. 1994. スイートピーの新品種‘ルナ’の育成経過と特性. 神奈川県園試報. 44:15-19.

山元恭介. 1998. アルテミス. 品種登録 6579.

摘 要

スイートピーは日本では冬から春期に出荷される主要切り花品目の一つであり、施設での切り花栽培は日本で最も盛んに行われている。野生型の開花習性は長日性の夏咲き性であり、日本での切り花生産に適した中性の冬咲き性は、夏咲き性からの突然変異により出現した劣性形質と考えられている。冬咲き性品種は、花色や芳香性などのバリエーションが小さいという問題がある。本研究では、夏咲き性品種群の持つ花卉の斑入り形質の冬咲き性品種群への導入を試みた。スイートピーは自殖性植物であることから、全ての遺伝子座の型をホモで持ち、遺伝性の解析に適した植物である。育種を論理的・効率的に実施するため、目的とする表現型の遺伝性を明らかにした。

花卉の斑入り形質の一つである吹きかけ模様を対象形質として、吹きかけ花と全着色花または全白色花との交雑を行ない、 F_1 およびその F_2 世代の表現型を解析した。吹きかけ形質の発現には、吹きかけ性を制御する遺伝子座の劣性の1遺伝子と、着色性を制御する遺伝子座の優性の1遺伝子を必要とすること、この着色遺伝子が吹きかけ形質の発現を劣性上位で制御していることを明らかにした。また、日本での栽培品種の冬咲き性も、劣性の1遺伝子によって制御されていることを確認した。開花習性、吹きかけ形質、着色性を制御するそれぞれの遺伝子座が、互いに独立の関係にあることを明らかにした。

別の花卉の斑入り形質である刷毛目模様は、刷毛目性を制御する複対立遺伝子座の G_1' 遺伝子と着色量を制御する遺伝子座の d_3 遺伝子の共存によって発現する場合と、刷毛目性遺伝子座の G_1'' 遺伝子が単独で発現する場合があることが、これまでに明らかにされていた。本研究では刷毛目花と全着色花の交雑を行ない、 F_1 およびその F_2 世代の表現型の遺伝性を解析した。冬咲き性品種群には d_3 および G_1'' 遺伝子が存在しないことを明らかにした。また、着色を制御する2つの補足遺伝子 C -white と R -white が、冬咲き性品種群にも存在すること、それぞれが刷毛目模様の発現を異なる形で制御することを明らかにした。

以上の研究で明らかにした形質の遺伝様式を基に、目的とする形質を固定するために必要な

対立遺伝子の操作を示した。これを基に実際に行った品種育成の過程を評価し、それぞれの対立遺伝子を固定する操作が行われた世代を特定した。この検証を通して、刷毛目形質発現に関わる遺伝子座に対しても開花習性を制御する遺伝子座および着色性を制御する遺伝子座は独立の関係にあることを示した。

スイートピーの黄色花色は淡黄色であり、濃黄色の品種は存在しない。そのため多くの植物で淡黄色の発色を担うフラボノイドが黄色の発色を担っていると考えられてきた。紫外光下の観察と HPLC 分析によって、淡黄色品種‘アルテミス’の花のフラボノイド濃度は白色花に比べて同程度あるいは低いことを確認した。青色発光ダイオード下の明暗像から、‘アルテミス’の黄色色素は、多くの花で濃黄色の発色を担うカロテノイドと推測した。HPLC 分析により、‘アルテミス’の黄色色素はルテインを主要成分とし、ゼアキサントシンと β -カロテンを含むカロテノイドであることを明らかにした。黄色色素がカロテノイドであることで、濃黄色品種の育成への期待が生まれた。カロテノイドはペラルゴニジン系アントシアニンと共存できることが確認されたことで、淡黄色を下地にしたペラルゴニジン系のピンク色の吹きかけ模様あるいは刷毛目模様をもつ、新しい品種の育成の可能性が示された。

本研究の成果は、スイートピーの花の色に関しては、複雑な遺伝性を示す表現型でも、多くの場合は少数の主働遺伝子によって支配されている可能性を示している。関連遺伝子座の数や優劣性の解明によって表現型の固定を確認するのに必要な自殖世代数、目的形質を有する個体の出現数を推定し、選抜集団の大きさなどを想定することで、効率的・効果的な品種育成が可能となる。個人育種家や公的研究機関に散在している形質発現や遺伝性に関する情報を蓄積し共有化することで、スイートピー品種の育種が理論的・効率的に進むことが期待される。

Summary

Sweet pea is one of the major cut flowers in Japan and generally cultivated in greenhouse to be shipped from winter to early spring. While the long-day summer flowering is original flowering property of the wild type, the day-neutral winter-flowering ability, which is suitable for cut flower production in Japan, is recessive trait emerged by spontaneous mutation. The winter-flowering cultivars have a problem of less phenotypic variation than summer-flowering cultivars. In this dissertation, I have tried to introduce the traits of flower petal variegation of summer-flowering cultivars into winter-flowering cultivars. As sweet peas are autogamous, the genotypes of the fixed cultivars and lines are all homozygous. Therefore, sweet pea is a suitable plant to analyze of inheritance. I studied inheritance of phenotypes and independency of relative loci to construct logical and efficient breeding system.

At first I targeted the stripe-variegate as one of petal variegated traits. I crossed plants of stripe-variegated phenotype with plants of self-color or white phenotype, and analyzed segregation of phenotypes in F_1 and F_2 generations. These data indicate that the stripe-variegated phenotype is regulated by a single recessive gene and the expression of the phenotype is epistatically recessively suppressed by the other pigmentation gene. The winter-flowering cultivars currently cultivated in Japan are confirmed to be regulated by a single recessive gene. I also reveal independency among loci regulating flowering, stripe-variegated and

pigmentation.

Another petal variegated traits, flake-variegated had been analyzed by Punnett in 1930-40. Punnett indicated that expression of the flake-variegated phenotype requires both G_1' gene, which is one allele of G_1 locus regulating whole colored, flake-variegated, and white colored traits, and d_3 gene, which is one allele of D_3 locus regulating color density, and otherwise, requires another G_1 allele, G_1'' gene alone. I crossed plants of flake-variegated phenotype with plants of self-color phenotype, and analyzed segregation of phenotypes in F_1 and F_2 generation based on Punnett's hypothesis. These data indicate that the lacking genes of winter-flowering type were d_3 and G_1'' genes. Furthermore, complementary genes, R -white and C -white, either whose homozygote plant shows white phenotype while both whose heterozygote shows colored phenotype.

Based on the inheritance properties of these traits, I indicate allelic manipulation to fix the target traits. By tracing pedigree of actual breeding, I assign generation where these manipulations were performed. Though this verification, I revealed independency among loci regulating flowering, flake-variegated and pigmentation.

Yellow color of sweet pea flower is pale and dark yellow flower cultivars do not exist. It had been considered that flavonoids are responsible pigments for the pale yellow coloration of sweet pea like other pale yellow flower plants. Based on observation under ultra-violet and blue lights and HPLC analysis,

while the flavonoid concentrations of pale yellow 'Artemis' was less or similar to those of white cultivars, the yellow pigments were identified carotenoids, which is responsible for deep yellow flower coloration, and composed of lutein of the most major and followed zeaxanthin and β -carotene. This finding raises possibility of breeding dark yellow cultivars of sweet pea and that of controlling yellow pigment biosynthesis out of anthocyanin biosynthesis. On the other hand, linkage of accumulation of carotenoid with pelargonidin type anthocyanin biosynthesis was suggested, suggesting that breeding of pelargonidin type anthocyanin pink stripe-variegated or flake-variegated patterns with carotenoid yellow base cultivars could be feasible.

This study indicates that any complicated heredity of sweet pea plants could be basically understand by Mendel's law and its variation. Loci numbers and their dominancy give information to estimate generation to confirm the fixation and the size of selection group. So far these information are scattered because many of sweet pea cultivars have been bred by individual breeders and public research institutes. I hope that accumulating and sharing these information will contribute theoretical and efficient breeding of sweet pea cultivars.

謝 辞

本博士論文を取りまとめるにあたり、筑波大学大学院生命環境科学研究科准教授 中山真義 博士には終始、懇切な御指導と暖かい激励を賜りました。ここに厚く御礼申し上げます。また本研究を取りまとめるにあたり、貴重な御助言と御指導をいただくとともに御校閲の労を賜りました、筑波大学大学院生命環境科学研究科教授 大宮あけみ博士、西島隆明博士、菅谷純子博士に心より感謝申し上げます。

本研究を進めるにあたり貴重なアドバイスと激励を頂いた神奈川県農業技術センター 原 靖英氏に心より感謝申し上げます。同 足柄地区事務所長 山元恭介氏にはスイートピーの研究全般にわたり、ご指導頂きました。同 企画経営部 美濃口薫氏には、仕事との両立にあたり、ご協力・ご支援いただきました。また、同 所長 菊池雅美氏、同 前所長 露木洋一氏、同 生産技術部長 小林正伸氏には博士課程入学の機会を与えて頂きました。倉持幸男氏をはじめ果樹花き研究課職員の皆様には、高度な知識と栽培技術で、多大な労力のかかるスイートピーの栽培管理を担当して頂き、貴重な研究データを得ることができました。皆様に心より感謝いたします。

最後になりますが、半世紀となる人生を迎える目前での博士課程入学を快く承諾し、いつも応援してくれた夫と息子達に心から感謝します。